

## 线粒体功能障碍与血管内皮损伤的研究进展

闫明静<sup>1,2</sup>, 沈涛<sup>1,2</sup>

(1. 北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委北京老年医学研究所 国家卫生健康委老年医学重点实验室 中国医学科学院老年医学研究院, 2. 北京大学第五临床医学院, 北京市 100730)

[专家简介] 沈涛, 研究员, 2006 年毕业于北京大学医学部, 获得理学博士学位。2006—2010 年在美国加州大学圣迭戈分校医学院和药学院进行博士后研究工作。现任国家老年医学中心/国家卫生健康委员会北京老年医学研究所生物化学研究室副主任, 北京大学医学部、北京协和医学院、卫生健康委员会北京老年医学研究所研究生导师, 主要从事心肌损伤和心力衰竭、心肌肥厚、动脉粥样硬化发病机制和心血管药物相关研究。以通信作者或第一作者在 *Journal of Clinical Investigation*、*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*、*Journal of Biological Chemistry* 等期刊上发表学术论文 30 余篇。曾获得国际病理生理学学会研究奖、加州大学心血管研究奖, 并得到国家自然科学基金、北京市自然科学基金、教育部留学回国人员基金、美国心脏学会基金支持, 参与十三五国家重点研发计划相关工作。现任中国生物物理学会衰老生物学会、中国老年学和老年医学学会老年病学分会常委, 担任 *Aging Medicine*、中国心血管杂志、*Journal of Cardiovascular Disease Research* 编委。



[关键词] 内皮损伤; 线粒体功能障碍; 线粒体融合与分裂; 线粒体自噬; 线粒体 DNA 突变

[摘要] 线粒体功能障碍会导致 ATP 的生成减少, 活性氧的产生增加, 被认为是血管内皮损伤的触发因素之一。许多因素与线粒体功能障碍有关, 如线粒体 DNA 突变、线粒体融合与分裂失衡、线粒体自噬受损等。本文综述了线粒体的质量控制过程和线粒体功能障碍在血管内皮损伤中的作用机制, 以期对动脉粥样硬化的有效防治提供新的思路。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### The research progress on mitochondrial dysfunction and vascular endothelial cell injury

YAN Mingjing<sup>1,2</sup>, SHEN Tao<sup>1,2</sup>

(1. The Key Laboratory of Geriatrics, Beijing Institute of Geriatrics, Institute of Geriatric Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing Hospital/National Center of Gerontology of National Health Commission, Beijing 100730, China; 2. Peking University Fifth School of Clinical Medicine, Beijing 100730, China)

[KEY WORDS] endothelial injury; mitochondrial dysfunction; mitochondrial fusion and fission; mitophagy; mitochondrial DNA mutation

[ABSTRACT] Mitochondrial dysfunction can lead to ATP decrease and reactive oxygen species increase in cells. Therefore, mitochondrial dysfunction is considered to be one of the culprit factors of vascular endothelial cell injury. Many causes are related to mitochondrial dysfunction including mitochondrial DNA mutations, mitochondrial fusion and fission imbalance, and mitophagy dysfunction. This review discussed the regulation mechanisms of mitochondrial quality control and mitochondrial dysfunction in vascular endothelial cell injury, which provide new ideas for the effective prevention and treatment of atherosclerosis.

[收稿日期] 2021-03-31

[修回日期] 2021-04-26

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81770228, 81470427)

[作者简介] 闫明静, 博士研究生, 主要研究方向为心血管疾病发病机制研究, E-mail 为 2691722948@qq.com。通信作者沈涛, 博士, 研究员, 硕士研究生导师, 主要研究方向为心血管疾病发病机制研究, E-mail 为 shentao4189@bjhmoh.cn。

线粒体是一种存在于大多数真核细胞的双层膜半自主细胞器,占细胞体积近三分之一,在细胞稳态中起着至关重要的作用,其生物学功能包括通过氧化磷酸化产生三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、维持氧化还原稳态和钙稳态等。血管内皮细胞的线粒体除了参与能量代谢生成 ATP,还参与多种细胞信号转导和功能调节<sup>[1-3]</sup>。此外,线粒体对于血管生成和血管内皮生长因子的释放也至关重要。近年来,关于线粒体功能障碍与血管内皮损伤的研究越来越多,也成为了心血管疾病研究的热点。线粒体功能障碍,特别是血管内皮细胞的线粒体功能障碍,与动脉粥样硬化的发生和发展密切相关。因此,本文概述了线粒体的质量控制过程和线粒体功能障碍在血管内皮损伤中的作用和相关机制,以期对动脉粥样硬化的有效防治提供新的思路。

## 1 线粒体的结构和功能

线粒体由线粒体外膜、线粒体内膜、膜间隙和基质组成。线粒体内膜通过向内折叠形成嵴,从而增加内膜面积,使更多的反应能在内膜上进行。此外,线粒体中包含多种蛋白质,以维持线粒体的代谢和机能的稳态。每个线粒体一般都含有多个独立编码的双链环状 DNA 分子,称为线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)。哺乳动物的 mtDNA 附着在线粒体内膜上,一般在 15~18 kb 之间,分为编码区和非编码区。编码区有 37 个基因,编码 2 个核糖体 RNA, 22 个转运 RNA 和 13 个疏水蛋白质。这 13 种蛋白质是线粒体呼吸链复合物的亚基,在氧化磷酸化中起到重要作用。非编码区也称 D 环区,调节 mtDNA 的复制和转录。研究发现,线粒体参与了许多细胞过程,例如细胞增殖、细胞凋亡、炎症反应和活性氧 (reactive oxidative species, ROS) 生成等<sup>[4]</sup>。

因此,线粒体功能障碍,如 mtDNA 突变、线粒体融合与分裂失衡、线粒体自噬功能障碍等,都可以导致线粒体形态异常,膜电位下降,ROS 生成增加,诱导细胞凋亡,进而可以造成多种疾病的发生,如动脉粥样硬化、心脏疾病、神经系统疾病和衰老等<sup>[5]</sup>。因此,维持线粒体稳态的靶向治疗有可能为这些疾病的防治提供新的策略。

## 2 线粒体质量控制

线粒体质量控制是通过一系列相互独立却又

密切相关的生物学过程来实现的,如线粒体融合、线粒体分裂与线粒体自噬等。线粒体质量控制可以保护线粒体免受应激损害,并且选择性清除受损的线粒体蛋白或功能障碍的线粒体,从而维持线粒体的形态、结构和功能,促进细胞存活。

### 2.1 线粒体融合

线粒体融合过程在线粒体的动态调控中起着至关重要的作用。在哺乳动物中,线粒体外膜的融合是由线粒体融合蛋白 (mitofusins, MFN) 介导的,主要包括 MFN1 和 MFN2 两种蛋白,而线粒体内膜的融合是由视神经萎缩 1 (optic atrophy 1, OPA1) 介导的。MFN1 和 MFN2 在两个紧密相邻的线粒体上形成同二聚体或异二聚体,启动线粒体融合。研究表明, MFN2 的缺失会导致线粒体的基础耗氧率下降,呼吸储备受损,质子泄漏增加,ATP 生成减少。此外, MFN2 敲除细胞的糖酵解能力也显著受损<sup>[4]</sup>。Appoptosin 也被称为 SLC25A38,是一种定位于线粒体内膜的转运蛋白。据报道, Appoptosin 过表达会损害 MFN1 和 MFN2 之间的相互作用,导致线粒体融合减少,分裂增加<sup>[5]</sup>。

OPA1 是一种与动力蛋白相关的 GTP 酶,调节线粒体内膜融合。在蛋白水解位点上, OPA1 具有两种亚型:长型 OPA1 (long-OPA1, L-OPA1) 和短型 OPA1 (short-OPA1, S-OPA1),它们协同调节线粒体融合状态。最近的研究结果表明, L-OPA1 通过与心磷脂结合可以实现线粒体融合,并且 OPA1 的同型相互作用可以介导线粒体内膜拴连和嵴的形成<sup>[6]</sup>。在应激状态下, OPA1 可以快速水解为 S-OPA1,导致线粒体分裂。此外,这些线粒体融合蛋白可能被几种 E3 泛素连接酶泛素化,如 Parkin 和 MARCH5/MITOL,然后被蛋白酶降解,导致线粒体融合减少、分裂增多和线粒体自噬。

### 2.2 线粒体分裂

线粒体分裂对于维持线粒体稳态是必不可少的。介导线粒体分裂的蛋白质有 MFF<sup>[7-8]</sup>、DNM1L/DRP1<sup>[9]</sup>、MIEF1/MID51-MIEF2/MID49<sup>[10]</sup>和 FIS1<sup>[11]</sup>。其中, GTP 酶动力相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, DRP1),也称为动力-1 样蛋白 (dynamic-1-like protein, DNM1L),是介导线粒体分裂的关键蛋白<sup>[12]</sup>。在哺乳动物细胞中,至少需要进行两次连续的收缩才能完成线粒体分裂过程:首先,内质网和肌动蛋白协同作用进行收缩;然后,在 DRP1 的作用下,线粒体膜进一步收缩,直到发生线粒体裂变。近期研究表明, DRP1 可以与 4 种蛋白质受体结合:线粒体分裂 1 (fission 1, FIS1)、49 kDa 和 51 kDa 的

线粒体动力学蛋白 (mitochondrial dynamics proteins of 49 kDa and 51 kDa, MID49/51) 以及线粒体融合因子 (mitochondrial fusion factor, MFF), 在它们协同作用或独立作用下形成分裂位点, 并从胞质中募集 DRP1, 在分裂位点上不断地围绕线粒体聚集组装成螺旋寡聚物<sup>[13]</sup>。某些分裂因子的存在, 如肌动蛋白丝, 促进了 DRP1 寡聚物的逐渐成熟和不均匀的线粒体分裂<sup>[14]</sup>。DRP1 还受翻译后修饰和代谢信号的调节, 如类泛素化和磷酸化<sup>[15]</sup>。DRP1 在 Ser-616 和 Ser-585 位点上的磷酸化可以促进线粒体分裂<sup>[16-17]</sup>, 而 DRP1 在 Ser-637 的磷酸化状态不能决定 DRP1 的亚细胞定位及其分裂活性<sup>[18]</sup>。

然而, 近年对线粒体分裂的研究表明, 在 DRP1 缺陷细胞中也存在线粒体自噬和线粒体分裂, 这促使人们认识到可能还存在新的分裂介质, 如 Tmem135<sup>[19]</sup>。Lee 等<sup>[20]</sup>的体外研究表明, 在细胞中普遍表达的经典 GTP 酶动力蛋白 2 (dynamin-2, DYN2/DNM2) 具有膜分裂特性, 在线粒体分裂过程中也起着重要作用。然而, 近期 Fonseca 等<sup>[21]</sup>的研究结果进一步证实了 DRP1 在线粒体分裂中的关键作用, 其研究发现, 在 DNM1、DNM2 和 DNM3 三种基因同时敲除和只敲除 DNM2 的小鼠成纤维细胞中, 线粒体分裂或融合过程均能正常进行。而在只敲除 DRP1 后, 线粒体分裂就会发生明显障碍。这些结果表明 DRP1 对于线粒体分裂是必不可少的, 而 DNM1、DNM2 和 DNM3 则不是线粒体分裂必需的。因此, 目前对于线粒体分裂的分子机制尚未完全明确, 仍然需要进一步的研究证实。

### 2.3 线粒体自噬

自噬是一种在进化上高度保守的溶酶体依赖性降解途径。在自噬过程中, 自噬小体的双层膜结构包裹受损的细胞器、蛋白质和入侵的微生物, 然后与溶酶体融合使其降解。巨自噬已被广泛研究, 并且被认为是蛋白质和细胞器非选择性降解的主要细胞途径。除了非选择性的巨自噬外, 选择性自噬在清除特定的细胞器中也起着重要作用, 如线粒体自噬、内质网自噬、核糖体自噬、溶酶体自噬等等。

线粒体选择性自噬, 又称线粒体自噬, 是一种高度保守的降解和清除功能失调或受损的线粒体的过程, 也是线粒体质量控制的重要机制<sup>[22]</sup>。蛋白质的正确折叠、易位和组装是线粒体稳态的基础。随着机体的衰老, ROS 产生增多, 氧化应激增强, 错误折叠的蛋白质和功能失调的线粒体逐渐累积。线粒体自噬可以特异性地识别并清除衰老或受损

的线粒体, 是维持线粒体稳态的关键质量控制过程<sup>[23]</sup>。线粒体分裂后, 也可以通过线粒体自噬清除有缺陷的子代线粒体。研究表明, 线粒体自噬功能障碍会导致受损线粒体累积增多, 同时还可以产生大量的促炎细胞因子, 引起炎症反应<sup>[24]</sup>。

研究表明, 多种途径参与了线粒体自噬调节, 其中研究最广泛的是 PTEN 诱导激酶 1 (PTEN-induced putative 1, PINK1)/Parkin 途径。在正常情况下, PINK1 在进入线粒体内膜后, 会被线粒体内膜的蛋白酶 PARL 剪切, 然后被释放到细胞质中进行降解。线粒体膜电位下降时, PINK1 进入线粒体内膜受阻, 因此 PARL 无法作用于 PINK1, 从而使其在线粒体外膜上稳定存在。随后, PINK1 可以使 E3 泛素连接酶 Parkin 磷酸化, Parkin 用 PINK1 生成的磷酸化泛素标记线粒体外膜中嵌入的蛋白质, 然后将其作为 PINK1 的底物, 进一步诱导线粒体自噬清除受损的线粒体。

细胞分化或某些急性应激通常会激活受体介导的线粒体自噬。一些 LC3 相互作用蛋白, 例如线粒体自噬受体 FUNDC1、BNIP3 或 Nip3 样蛋白 X (NIX/BNIP3L) 参与了受体介导的线粒体自噬<sup>[25]</sup>。FUNDC1、BNIP3 和 NIX 都是跨膜线粒体受体, 含有一个 LC3 相互作用区域基序, 可以在线粒体外膜上的配体和 LC3/GABARAP (一种自噬相关基因产物 Atg8 的哺乳动物同源物) 之间形成桥梁<sup>[26]</sup>。在低氧状态下, FUNDC1 去磷酸化, 增强与 LC3 的相互作用, 促进线粒体自噬, 保护细胞免受应激损伤; 而磷酸化 FUNDC1 可以逆转 FUNDC1 的激活过程, 消除与 LC3 的相互作用<sup>[27]</sup>。此外, BCL2L1/Bcl-xL 也可以通过抑制 FUNDC1 的去磷酸化来抑制线粒体自噬<sup>[28]</sup>。

研究表明, MFN2 也参与了线粒体自噬。MFN2 敲除的小鼠心肌细胞中出现自噬体的积累, 这是因为在没有 MFN2 的情况下, 自噬体与溶酶体的融合受损<sup>[29]</sup>。MFN2 还可以通过调节线粒体自噬而影响骨骼肌的衰老过程<sup>[30]</sup>。AMPK 介导能量缺乏的细胞自噬和线粒体裂变。研究发现, 在能量应激的情况下, AMPK 直接与 MFN2 相互作用, 调节线粒体自噬和线粒体分裂<sup>[4]</sup>。

综上所述, 由于线粒体无法从头合成, 因此需要不断通过动态调节线粒体融合、分裂和线粒体自噬来维持线粒体结构和功能的稳态。线粒体的调节是高度动态的, 不断发生分裂和融合的形态学变化, 以应对不同的代谢和环境变化。融合有助于受损线粒体与正常线粒体内容物均匀化, 修复受损线粒体功能。而分裂则导致线粒体断裂, 分裂为正常



的线粒体和功能异常的线粒体,并通过线粒体自噬促进受损线粒体的清除(图1)。因此,线粒体的质量控制对于维持线粒体的数量和功能至关重要。

过度的或不合时宜的融合或分裂,以及线粒体自噬功能障碍都可能引起线粒体功能障碍。

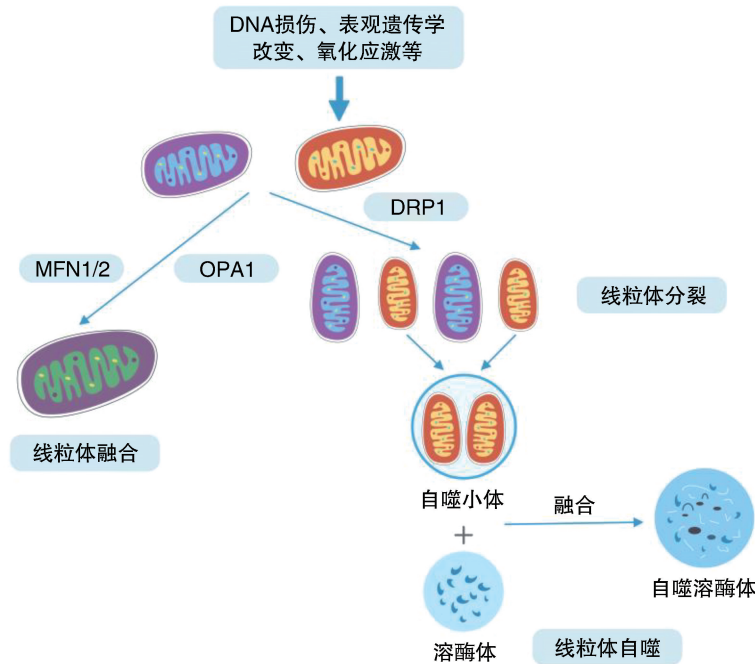


图1. 线粒体融合、裂变与线粒体自噬

在DNA损伤、表观遗传学改变或氧化应激等刺激下,线粒体的结构和功能发生变化。此时,线粒体的稳态通过一系列保护机制来维持,如线粒体融合、分裂和线粒体自噬。线粒体融合使受损线粒体与正常线粒体内容物均匀化,而分裂使线粒体分裂为正常的线粒体和功能异常的线粒体,并通过线粒体自噬促进受损线粒体清除。

Figure 1. Mitochondrial fusion, fission and mitophagy

### 3 线粒体功能障碍与血管内皮损伤

线粒体功能障碍通常表现为mtDNA突变、线粒体融合与分裂失衡和线粒体自噬功能障碍。在病理条件下,线粒体功能障碍主要导致ROS产生增多和ATP缺乏,然后进一步破坏线粒体功能和细胞稳态,形成一种恶性循环,加剧血管内皮损伤。线粒体功能障碍的特征是线粒体膜电位降低和ROS产生增加<sup>[31-32]</sup>,ROS介导的氧化应激会促进血管内皮细胞衰老<sup>[33]</sup>。线粒体功能障碍还会增加血管内皮细胞膜的通透性,进而损害血管内皮的屏障功能<sup>[34-35]</sup>。不可修复的线粒体损伤还会向细胞质中释放促凋亡蛋白,并启动线粒体介导的细胞死亡途径。虽然血管内皮细胞主要通过糖酵解途径生成ATP<sup>[36]</sup>,与心肌细胞相比,血管内皮细胞中的线粒体数量相对较少。但是,血管内皮细胞的线粒体功能障碍与多种疾病的发生密切相关,例如动脉粥样硬化、糖尿病引起的微血管损伤、缺血再灌注损

伤<sup>[37]</sup>、肾病<sup>[38]</sup>、外周动脉疾病<sup>[39]</sup>和肺动脉高压<sup>[22]</sup>等(图2)。因此,深入理解线粒体功能障碍在血管内皮损伤中的作用机制,有利于研究和发现保护血管内皮的新疗法,以减少血管相关疾病的发生发展。

动脉粥样硬化病变发生在动脉壁内膜层,成年人的血管内膜具有复杂的结构和细胞成分。目前认为动脉粥样硬化的形成主要有以下几种机制:血管内皮损伤、氧化应激、脂质代谢紊乱和炎症反应,其中,血管内皮损伤被认为是占主导地位的因素。血管内皮是保护脉管系统免受刺激的第一道屏障<sup>[40]</sup>。研究表明,在疾病的早期阶段,通常都存在不同程度的血管内皮损伤。血管内皮受损后渗透性增加,引起脂质蓄积和黏附蛋白积累,刺激白细胞迁移并黏附到血管壁上,引起炎症反应<sup>[41]</sup>。血管内膜中的氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)不断积累,导致斑块形成<sup>[42]</sup>。血管内皮细胞凋亡还可以诱导内皮单层剥落,推动动脉粥样硬化的发生发展。

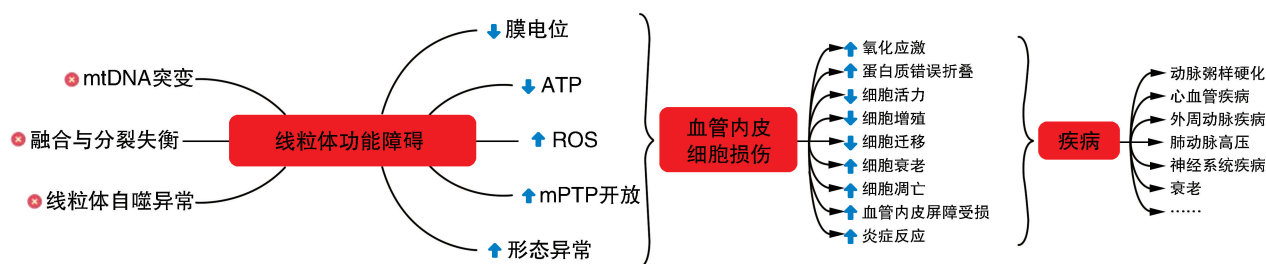


图 2. 线粒体功能障碍导致血管内皮细胞损伤

mtDNA 突变、线粒体融合与分裂失衡以及线粒体自噬异常均会导致线粒体功能障碍,引起血管内皮细胞损伤,进而导致多种疾病的产生。mPTP:线粒体膜渗透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore)

Figure 2. Mitochondrial dysfunction leads to vascular endothelial cell injury

线粒体功能障碍通过影响血管内皮,在动脉粥样硬化的发生和发展中起着重要作用。首先,低密度脂蛋白,尤其是 ox-LDL 会携带胆固醇并在动脉壁上积累,同时触发巨噬细胞中炎症因子的分泌,引起炎症反应。当血管内皮细胞 mtDNA 突变时,线粒体功能障碍,线粒体自噬失调,血管内皮细胞损伤,炎症因子的分泌导致脂质在血管内皮细胞中不断蓄积,血管壁的局部炎症逐渐加重,从而触发动脉粥样硬化病变的发生发展。动脉粥样硬化是冠状动脉狭窄的独立危险因素,也是心血管疾病患者的重要致病因素,因此,更好的理解血管内皮损伤的分子机制,将有助于动脉粥样硬化和其他心血管疾病的预防和治疗。

### 3.1 线粒体 DNA 突变与血管内皮损伤

由于缺乏组蛋白的保护和有效的 DNA 损伤修复系统,线粒体基因组高度不稳定,容易受到外界干扰。此外,mtDNA 比较接近 ROS 的产生位点,所以容易受到氧化应激的损害。研究表明,mtDNA 的突变频率比核 DNA 的突变频率高 5 ~ 15 倍。尽管线粒体呼吸链中的酶主要是由核 DNA 编码的,但 mtDNA 突变可能导致呼吸链复合物组装缺陷,酶活性降低,进而导致线粒体呼吸作用减弱,ATP 合成减少,引起多种心血管疾病,例如心力衰竭、动脉瘤和动脉粥样硬化。

研究表明,mtDNA 突变可以诱导炎症反应和细胞凋亡,是血管内皮损伤的关键原因。研究发现, ApoE<sup>-/-</sup>小鼠在动脉粥样硬化病变之前就发生了 mtDNA 突变<sup>[43]</sup>。此外,人类动脉粥样硬化纤维帽和脂质核心均显示出明显的线粒体功能障碍,表现为 mtDNA 突变和耗氧量减少。在人主动脉内膜中发现,mtDNA 突变的数量和血管内皮损伤的严重程度之间具有相关性。线粒体基因组中突变数量越高,血管内皮损伤越严重,动脉粥样硬化病变越

明显<sup>[44]</sup>。这是由于 mtDNA 突变的累积引起线粒体功能障碍,进而导致血管内皮细胞损伤,局部内皮的通透性增加,募集到白细胞引起炎症反应,容易诱发动脉粥样硬化。mtDNA 突变还可以导致血管平滑肌细胞异常增殖,过度凋亡和炎症因子释放,促进动脉粥样硬化和斑块不稳定性的发展<sup>[45]</sup>。

mtDNA 突变还会影响到线粒体自噬。研究表明,mtDNA 突变是线粒体自噬缺陷的原因之一。mtDNA 突变会导致线粒体自噬受损,功能障碍的线粒体在细胞内蓄积,引起血管内皮细胞损伤,导致动脉粥样硬化发生。此外,还有研究发现,与正常细胞相比,mtDNA 突变细胞的自噬微管相关蛋白轻链 3 的表达水平降低,自噬相关蛋白 p62 底物的积累减少,导致线粒体自噬功能障碍以及 ROS 水平明显升高<sup>[46]</sup>。而有些 mtDNA 突变还可以通过增强线粒体自噬来破坏线粒体功能,降低细胞活力<sup>[47]</sup>。线粒体脑肌病伴高乳酸血症和脑卒中样发作(mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes, MELAS),简称 MELAS 综合征,是最为常见的线粒体脑肌病类型。Jeppesen 等<sup>[48]</sup>在一名 MELAS 综合征晚期发作的患者中发现,由 mtDNA 突变介导的线粒体功能障碍与线粒体自噬信号传导密切相关。同时,mtDNA 突变可以导致线粒体膜电位破坏,ATP 生成受阻,细胞功能障碍,这是促线粒体自噬因子募集的主要原因。

### 3.2 线粒体融合分裂失衡与血管内皮损伤

线粒体的融合与分裂被认为是维持线粒体稳态的主要机制之一<sup>[49]</sup>。线粒体融合是一种将受损的线粒体与正常线粒体融合的过程。ox-LDL 诱导的血管内皮损伤是动脉粥样硬化的基础。在分子水平上,ox-LDL 可以诱导线粒体功能障碍,这主要表现为线粒体膜电位降低,ROS 生成增加,线粒体膜渗透性转换孔(mitochondrial permeability transition

pore, mPTP) 开放增加和 Caspase-3、Caspase-9 活性提高。线粒体功能障碍会抑制血管内皮细胞的增殖和迁移,降低细胞活力,造成细胞凋亡。最近的研究表明,OPA1 是线粒体融合的新型调节剂<sup>[50]</sup>。OPA1 表达增高会促进线粒体内膜融合,这对线粒体嵴的形成来说是必不可少的<sup>[51]</sup>。很多研究表明,OPA1 诱导的线粒体融合在缺血性中风损伤<sup>[52]</sup>、肝纤维化和糖尿病性心脏病<sup>[53]</sup>中都发挥了保护性作用。而最近有研究发现,OPA1 过表达也可以通过促进线粒体融合,减少氧化应激,促进内皮细胞生存力,减少细胞凋亡,进而逆转 ox-LDL 诱导的血管内皮损伤。此外,研究发现,抑制线粒体融合会破坏线粒体内稳态,导致氧化应激损伤,从而消除 OPA1 过表达对血管内皮的保护性作用。因此,OPA1 介导的线粒体融合对维持线粒体稳态和血管内皮细胞的活力具有重要作用<sup>[54]</sup>。此外,线粒体融合还可以保护血管内皮免受缺血再灌注诱导的损害<sup>[55]</sup>。线粒体融合的激活也可以通过 AMPK/OPA1 信号通路减少血管平滑肌细胞中的钙沉积<sup>[56]</sup>。

在心脏微血管中,缺血再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 损伤可以激活 DRP1 依赖性线粒体分裂,随后诱导 mPTP 开放, PINK1/Parkin 上调,引发线粒体功能障碍,最终导致线粒体自噬介导的血管内皮细胞死亡。研究发现,褪黑素通过下调 DRP1,抑制线粒体分裂,阻止 mPTP 开放和 PINK1/Parkin 激活,进而减轻血管内皮损伤,保护血管内皮屏障的完整性,保护心脏微血管免受 I/R 损伤<sup>[57]</sup>。恩格列净 (Empagliflozin) 是一种治疗 2 型糖尿病的药物,在降血糖的同时,还具有心脏保护作用。药物作用机制研究发现,恩格列净可以通过抑制线粒体分裂减少 ROS 的产生,来抑制血管内皮损伤,从而改善糖尿病性心脏微血管损伤<sup>[58]</sup>。

### 3.3 线粒体自噬功能障碍与血管内皮损伤

线粒体自噬是血管内皮细胞抑制炎症反应和维持细胞稳态的一种关键的调节机制。血管内皮细胞功能障碍与糖尿病引起的心脑血管并发症密切相关。研究发现,脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) 通过激活线粒体自噬减少氧化应激和血管内皮细胞凋亡,进而减轻高糖诱导的脑微血管损伤<sup>[59]</sup>。激活线粒体自噬还可以减弱高脂饮食诱导的血管内皮功能障碍<sup>[60]</sup>。最新研究发现,抑制人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因 (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN) 可以通过调节 AMPK-CREB-MFN2-线粒体自噬信号通路来减轻冠

心病患者血管内皮细胞凋亡,保护血管内皮功能<sup>[61]</sup>。此外, Bhogal 等<sup>[62]</sup>的研究结果也表明,线粒体自噬可以促进 I/R 损伤的肝脏血管内皮细胞存活。

相反,还有其他研究表明,线粒体自噬水平降低会导致功能障碍的线粒体和错误折叠的蛋白质积累,这是血管内皮细胞氧化应激损伤的主要原因。Zheng 等<sup>[54]</sup>发现 ox-LDL 可以通过抑制线粒体自噬导致血管内皮细胞凋亡。随着生物技术的发展,纳米颗粒已广泛用于制药领域。与此同时,纳米材料在心血管系统中的毒性作用也越来越受到关注。新近研究表明,抑制线粒体自噬会加剧纳米颗粒诱导的超氧阴离子的积累,导致线粒体功能障碍,触发血管内皮细胞死亡<sup>[63]</sup>。

## 4 结论与展望

线粒体作为细胞内重要的细胞器,无论在数量还是质量上都在不断发生动态变化。在线粒体结构和功能的稳态维持方面,可以通过融合和分裂产生新的线粒体,可以通过线粒体自噬清除有缺陷的或功能异常的线粒体。在生理条件下,线粒体融合与分裂之间保持平衡,并通过线粒体自噬以清除衰老的线粒体从而实现正常的细胞稳态。在病理条件下,例如 mtDNA 突变、融合与分裂失衡以及线粒体自噬失调等,均会导致线粒体形态异常、氧化磷酸化功能障碍、ATP 合成减少、细胞色素 C 的释放以及线粒体依赖性细胞信号转导的激活,进而引发线粒体功能障碍。近几年的研究表明,线粒体功能障碍是导致血管内皮损伤的主要因素,而血管内皮损伤在动脉粥样硬化的发生和发展中起主要作用。因此,深入了解线粒体功能障碍在血管内皮损伤中的作用机制将有助于动脉粥样硬化等血管相关疾病的预防和治疗。

目前,对于线粒体功能障碍在血管内皮损伤和血管疾病发生中的作用及其机制仍然不完全清楚,并且大多停留在实验室研究阶段,而临床研究和疾病治疗的证据并不充分。因此,虽然这些研究结果为治疗动脉粥样硬化提供了理论依据,但是如何将血管内皮细胞的线粒体稳态调控基础研究成果转化为临床实践,还需要进一步的探索。此外,线粒体质量控制和相关信号网络是高度动态和复杂的。尽管已经研究了在体外实时追踪线粒体的技术,但在体研究仍需要更为精确有效的方法<sup>[64]</sup>。因此,在血管内皮损伤方面,未来的主要研究方向应包括深



入研究血管内皮损伤时线粒体功能障碍的分子机制、开发更多技术手段实现体内追踪线粒体质量控制过程和信号网络变化、鉴定线粒体功能障碍的蛋白质靶标与血管内皮损伤之间的联系以及开发更有效的药物来保护血管内皮。

#### [参考文献]

- [1] FARBER G, PARKS M M, LUSTGARTEN G N, et al. Adam10 controls the differentiation of the coronary arterial endothelium[J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(2): 237-250.
- [2] MONTOYA-ZEGARRA J A, RUSSO E, RUNGE P, et al. AutoTube: a novel software for the automated morphometric analysis of vascular networks in tissues[J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(2): 223-236.
- [3] RUSNATI M, BORSOTTI P, MORONI E, et al. The calcium-binding type III repeats domain of thrombospondin-2 binds to fibroblast growth factor 2 (FGF2)[J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(1): 133-144.
- [4] HU Y, CHEN H, ZHANG L, et al. The AMPK-MFN2 axis regulates MAM dynamics and autophagy induced by energy stresses[J]. *Autophagy*, 2021, 17(5): 1142-1156.
- [5] ZHANG C, SHI Z, ZHANG L, et al. Apoptosis interacts with mitochondrial outer-membrane fusion proteins and regulates mitochondrial morphology[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(5): 994-1002.
- [6] BAN T, ISHIHARA T, KOHNO H, et al. Molecular basis of selective mitochondrial fusion by heterotypic action between OPA1 and cardiolipin[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(7): 856-863.
- [7] GANDRE-BABBE S, VAN DER BLIEK A M. The novel tail-anchored membrane protein Mff controls mitochondrial and peroxisomal fission in mammalian cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(6): 2402-2412.
- [8] OTERA H, WANG C, CLELAND M M, et al. Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of Drp1 during mitochondrial fission in mammalian cells[J]. *J Cell Biol*, 2010, 191(6): 1141-1158.
- [9] SMIRNOVA E, GRIPARIC L, SHURLAND D L, et al. Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2001, 12(8): 2245-2256.
- [10] PALMER C S, ELGASS K D, PARTON R G, et al. Adaptor proteins MiD49 and MiD51 can act independently of Mff and Fis1 in Drp1 recruitment and are specific for mitochondrial fission[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(38): 27584-27593.
- [11] LOSON O C, SONG Z Y, CHEN H, et al. Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission[J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24(5): 659-667.
- [12] CEREGHETTI G M, STANGHERLIN A, MARTINS D O, et al. Dephosphorylation by calcineurin regulates translocation of Drp1 to mitochondria[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(41): 15803-15808.
- [13] OSELLAME L D, SINGH A P, STROUD D A, et al. Co-operative and independent roles of the Drp1 adaptors Mff, MiD49 and MiD51 in mitochondrial fission[J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(11): 2170-2181.
- [14] JI W K, HATCH A L, MERRILL R A, et al. Actin filaments target the oligomeric maturation of the dynamin GTPase Drp1 to mitochondrial fission sites[J]. *Elife*, 2015, 4: e11553.
- [15] HU C, HUANG Y, LI L. Drp1-dependent mitochondrial fission plays critical roles in physiological and pathological progresses in mammals[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(1): 144.
- [16] HUANG C Y, CHIANG S F, CHEN W T, et al. HMGB1 promotes ERK-mediated mitochondrial Drp1 phosphorylation for chemoresistance through RAGE in colorectal cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 1004.
- [17] TAGUCHI N, ISHIHARA N, JOFUKU A, et al. Mitotic phosphorylation of dynamin-related GTPase Drp1 participates in mitochondrial fission[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(15): 11521-11529.
- [18] YU R, LIU T, NING C, et al. The phosphorylation status of Ser-637 in dynamin-related protein 1 (Drp1) does not determine Drp1 recruitment to mitochondria[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(46): 17262-17277.
- [19] LEE W H, HIGUCHI H, IKEDA S, et al. Mouse Tmem135 mutation reveals a mechanism involving mitochondrial dynamics that leads to age-dependent retinal pathologies[J]. *Elife*, 2016, 5: e19264.
- [20] LEE J E, WESTRATE L M, WU H, et al. Multiple dynamin family members collaborate to drive mitochondrial division[J]. *Nature*, 2016, 540(7631): 139-143.
- [21] FONSECA T B, SANCHEZ-GUERRERO A, MILOSEVIC I, et al. Mitochondrial fission requires DRP1 but not dynamins[J]. *Nature*, 2019, 570(7761): E34-E42.
- [22] WANG Z, WHITE A, WANG X, et al. Mitochondrial fission mediated cigarette smoke-induced pulmonary endothelial injury[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2020, 63(5): 637-651.
- [23] BI W, JIA J, PANG R, et al. Thyroid hormone postconditioning protects hearts from ischemia/reperfusion through reinforcing mitophagy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109220.
- [24] ZHONG Z, UMEMURA A, SANCHEZ-LOPEZ E, et al.

- NF- $\kappa$ B restricts inflammasome activation via elimination of damaged mitochondria[J]. *Cell*, 2016, 164(5): 896-910.
- [25] ZHOU H, ZHU P, WANG J, et al. Pathogenesis of cardiac ischemia reperfusion injury is associated with CK2 $\alpha$ -disturbed mitochondrial homeostasis via suppression of FUNDC1-related mitophagy[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(6): 1080-1093.
- [26] SCHWEERS R L, ZHANG J, RANDALL M S, et al. NIX is required for programmed mitochondrial clearance during reticulocyte maturation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(49): 19500-19505.
- [27] CHEN G, HAN Z, FENG D, et al. A regulatory signaling loop comprising the PGAM5 phosphatase and CK2 controls receptor-mediated mitophagy [J]. *Mol Cell*, 2014, 54(3): 362-377.
- [28] WU H, XUE D, CHEN G, et al. The BCL2L1 and PGAM5 axis defines hypoxia-induced receptor-mediated mitophagy[J]. *Autophagy*, 2014, 10(10): 1712-1725.
- [29] ZHAO T, HUANG X, HAN L, et al. Central role of mitofusin 2 in autophagosome-lysosome fusion in cardiomyocytes[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(28): 23615-23625.
- [30] SEBASTIÁN D, SORIANELLO E, SEGALÉS J, et al. Mfn2 deficiency links age-related sarcopenia and impaired autophagy to activation of an adaptive mitophagy pathway [J]. *EMBO J*, 2016, 35(15): 1677-1693.
- [31] WANG J, ZHU P, LI R, et al. Bax inhibitor 1 preserves mitochondrial homeostasis in acute kidney injury through promoting mitochondrial retention of PHB2 [J]. *Theranostics*, 2020, 10(1): 384-397.
- [32] WANG J, ZHU P, TOAN S, et al. Pum2-Mff axis fine-tunes mitochondrial quality control in acute ischemic kidney injury [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2020, 36(4): 365-378.
- [33] HOU Y, HU Z, GONG X, et al. HSPB8 overexpression prevents disruption of blood-brain barrier after intracerebral hemorrhage in rats through Akt/GSK3 $\beta$ / $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(17): 17568-17581.
- [34] MUKWAYA A, MIRABELLI P, LENNIKOV A, et al. Revascularization after angiogenesis inhibition favors new sprouting over abandoned vessel reuse[J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(4): 553-567.
- [35] WANG H H, WU Y J, TSENG Y M, et al. Mitochondrial fission protein 1 up-regulation ameliorates senescence-related endothelial dysfunction of human endothelial progenitor cells[J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(4): 569-582.
- [36] ZHOU H, SHI C, HU S, et al. B11 is associated with microvascular protection in cardiac ischemia reperfusion injury via repressing Syk-Nox2-Drp1-mitochondrial fission pathways[J]. *Angiogenesis*, 2018, 21(3): 599-615.
- [37] ZHANG F, CHEN S, JY W, et al. 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase/hydrogen sulfide protects cerebral endothelial cells against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced injury via mitoprotection and inhibition of the RhoA/ROCK pathway[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 319(4): C720-C733.
- [38] ZHAI Y, LIU Y, QI Y, et al. The soluble VEGF receptor sFlt-1 contributes to endothelial dysfunction in IgA nephropathy[J]. *PLoS One*, 2020, 15(8): e0234492.
- [39] PARK S Y, PEKAS E J, HEADID R 3, et al. Acute mitochondrial antioxidant intake improves endothelial function, antioxidant enzyme activity, and exercise tolerance in patients with peripheral artery disease [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2020, 319(2): H456-H467.
- [40] 瞿凯, 邱菊辉, 王贵学. 血管内皮细胞屏障功能的血流动力学调控及其与动脉粥样硬化的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(1): 1-6.
- [41] OREKHOV A, NIKIFOROV N G, ELIZOVA N V, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and C-C motif chemokine ligand 18 associate with atherosclerotic lipid accumulation in situ and in vitro[J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(24): 2883-2889.
- [42] TERTOV V V, SOBENIN I A, GABBASOV Z A, et al. Multiple-modified desialylated low density lipoproteins that cause intracellular lipid accumulation. Isolation, fractionation and characterization[J]. *Lab Invest*, 1992, 67(5): 665-675.
- [43] LEMIEUX H, SEMSROTH S, ANTRETTETTER H, et al. Mitochondrial respiratory control and early defects of oxidative phosphorylation in the failing human heart[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43(12): 1729-1738.
- [44] OREKHOV A, GERASIMOVA E V, SUKHORUKOV V N, et al. Do mitochondrial DNA mutations play a key role in the chronification of sterile inflammation? Special focus on atherosclerosis[J]. *Curr Pharm Des*, 2021, 27(2): 276-292.
- [45] YU E, REINHOLD J, YU H, et al. Mitochondrial respiration is reduced in atherosclerosis, promoting necrotic core formation and reducing relative fibrous cap thickness [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(12): 2322-2332.
- [46] ZHANG J, JI Y, LU Y, et al. Leber's hereditary optic neuropathy(LHON)-associated ND5 12338T>C mutation altered the assembly and function of complex I, apoptosis and mitophagy[J]. *Hum Mol Genet*, 2018, 27(11): 1999-2011.
- [47] GRANATIERO V, GIORGIO V, CALÌ T, et al. Reduced mitochondrial Ca<sup>2+</sup> transients stimulate autophagy in



- human fibroblasts carrying the 13514A>G mutation of the ND5 subunit of NADH dehydrogenase [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(2): 231-241.
- [48] JEPPESEN T D, SCHWARTZ M, HANSEN K, et al. Late onset of stroke-like episode associated with a 3256C>T point mutation of mitochondrial DNA [J]. *J Neurol Sci*, 2003, 214(3): 00160-00168.
- [49] ZHOU H, WANG J, ZHU P, et al. NR4A1 aggravates the cardiac microvascular ischemia reperfusion injury through suppressing FUNDC1-mediated mitophagy and promoting Mff-required mitochondrial fission by CK2 $\alpha$  [J]. *Basic Res Cardiol*, 2018, 113(4): 23.
- [50] JANG S, JAVADOV S. OPA1 regulates respiratory super-complexes assembly: the role of mitochondrial swelling [J]. *Mitochondrion*, 2020, 51: 30-39.
- [51] ZHOU L, ZHANG L, ZHANG Y, et al. PINK1 deficiency ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury in rats [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 1225.
- [52] 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.
- [53] LUO J, SHEN S. Lipoic acid alleviates schistosomiasis-induced liver fibrosis by upregulating Drp1 phosphorylation [J]. *Acta Trop*, 2020, 206: 105449.
- [54] ZHENG J, LU C. Oxidized LDL causes endothelial apoptosis by inhibiting mitochondrial fusion and mitochondria autophagy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 600950.
- [55] ZHOU H, TOAN S. Pathological roles of mitochondrial oxidative stress and mitochondrial dynamics in cardiac microvascular ischemia/reperfusion injury [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(1): 85.
- [56] CHEN W R, ZHOU Y J, YANG J Q, et al. Melatonin attenuates calcium deposition from vascular smooth muscle cells by activating mitochondrial fusion and mitophagy via an AMPK/OPA1 signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020: 5298483.
- [57] ZHOU H, ZHANG Y, HU S Y, et al. Melatonin protects cardiac microvasculature against ischemia/reperfusion injury via suppression of mitochondrial fission-VDAC1-HK2-mPTP-mitophagy axis [J]. *J Pineal Res*, 2017, 63(1): 12413.
- [58] ZHOU H, WANG S, ZHU P, et al. Empagliflozin rescues diabetic myocardial microvascular injury via AMPK-mediated inhibition of mitochondrial fission [J]. *Redox Biol*, 2018, 15: 335-346.
- [59] JIN H, ZHU Y, LI Y, et al. BDNF-mediated mitophagy alleviates high-glucose-induced brain microvascular endothelial cell injury [J]. *Apoptosis*, 2019, 24(5/6): 511-528.
- [60] LI P, BAI Y, ZHAO X, et al. NR4A1 contributes to high-fat associated endothelial dysfunction by promoting CaMKII-Parkin-mitophagy pathways [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2018, 23(4): 749-761.
- [61] LI P, WANG J, ZHAO X, et al. PTEN inhibition attenuates endothelial cell apoptosis in coronary heart disease via modulating the AMPK-CREB-Mfn2-mitophagy signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(5): 4878-4889.
- [62] BHOGAL R H, WESTON C J, VELDUIS S, et al. The reactive oxygen species-mitophagy signaling pathway regulates liver endothelial cell survival during ischemia/reperfusion injury [J]. *Liver Transpl*, 2018, 24(10): 1437-1452.
- [63] ZHANG J, WANG B, WANG H, et al. Disruption of the superoxide anions-mitophagy regulation axis mediates copper oxide nanoparticles-induced vascular endothelial cell death [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 268-278.
- [64] GUO Y, LI D, ZHANG S, et al. Visualizing intracellular organelle and cytoskeletal interactions at nanoscale resolution on millisecond timescales [J]. *Cell*, 2018, 175(5): 1430-1442.
- (此文编辑 文玉珊)