

本文引用: 郭芊芊, 周楷杰, 雷家骅, 等. mitoNEET: 动脉粥样硬化防治新靶标[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(12): 1079-1083. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.12.010.

[文章编号] 1007-3949(2023)31-12-1079-05

· 文献综述 ·

mitoNEET: 动脉粥样硬化防治新靶标

郭芊芊^{1*}, 周楷杰^{2*}, 雷家骅², 石富文², 彭娟¹, 熊文昊¹, 姜志胜¹

(1. 南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室 湖南省动脉硬化性疾病国际科技创新合作基地, 2. 南华大学衡阳医学院, 湖南省衡阳市 421001)

[摘要] 该综述重点阐述了 mitoNEET 的结构特点及其作为调节线粒体功能的关键蛋白在调节线粒体功能、维持细胞铁稳态、参与能量代谢等方面的多种生物学功能, 以期防治与炎症、氧化应激损伤及脂质代谢紊乱等密切相关的疾病, 如肥胖、糖尿病及动脉粥样硬化相关性疾病等提供新的干预手段及治疗靶点。

[关键词] mitoNEET; 线粒体功能; 铁稳态; 动脉粥样硬化

[中图分类号] R541

[文献标识码] A

mitoNEET: a new target for prevention and treatment of atherosclerosis

GUO Qianqian^{1*}, ZHOU Kaijie^{2*}, LEI Jiahua², SHI Fuwen², PENG Juan¹, XIONG Wenhao¹, JIANG Zhisheng¹

(1. Institute of Cardiovascular Disease, University of South China & Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province & Human International Scientific and Technological Cooperation Base of Arteriosclerotic Disease, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Hengyang Medical College of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[ABSTRACT] This review focuses on the structural characteristics of mitoNEET and its various biological functions as a key protein in regulating mitochondrial function, maintaining cellular iron homeostasis, and participating in energy metabolism. The aim is to provide new intervention methods and therapeutic targets for the prevention and treatment of diseases closely related to inflammation, oxidative stress damage, lipid metabolism disorders, such as obesity diabetes and atherosclerosis-related diseases.

[KEY WORDS] mitoNEET; mitochondrial function; iron homeostasis; atherosclerosis

动脉粥样硬化是心血管疾病及其并发症共同的病理生理基础。由于发病过程复杂, 动脉粥样硬化的确切机制尚未完全阐明。近年来发现线粒体在动脉粥样硬化的发生和发展中扮演重要角色。线粒体是细胞内的能量中心, 通过氧化磷酸化反应产生 ATP, 为细胞提供能量。当细胞内及线粒体内部的能量代谢和信号传递出现紊乱, 将引起活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 增多、氧化应激增强,

导致线粒体功能障碍, 进而影响动脉粥样硬化的发展。总的来说, 动脉粥样硬化与线粒体的关系涉及多个层面, 包括能量代谢、氧化应激以及线粒体动态平衡等多个方面。然而, 这个领域的研究还处于早期阶段, 许多关于线粒体如何影响动脉粥样硬化的确切机制仍然不清楚, 需要更多的研究来深入了解这些过程, 以便为动脉粥样硬化的预防和治疗提供新的策略。

[收稿日期] 2023-11-20

[修回日期] 2023-12-01

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81670429, 91839103); 湖南省自然科学基金项目(2021JJ30021); 湖南省教育厅优秀青年项目(20B501); 湖南省大学生创新创业训练计划项目(S202310555202)

[作者简介] 郭芊芊, 硕士, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治, E-mail: nhdsguoqianqian@163.com。周楷杰, 2022 级医学 2 班本科生, 研究方向为心血管疾病发病机制研究, E-mail: 1371708664@qq.com。通信作者熊文昊, 博士, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化病因发病学与防治基础, E-mail: grey34@usc.edu.cn。通信作者姜志胜, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化病因发病学以及心肌缺血损伤的细胞分子机制与防治, E-mail: zsjiang2005@163.com。* 为并列第一作者。

1 mitoNEET 的结构特征

mitoNEET 是 Colca 等^[1]于 2004 年在研究 2 型糖尿病药物吡格列酮的靶蛋白时发现的一种位于线粒体外膜上的小分子蛋白质。因其源自于线粒体,又归属于 NEET 蛋白,即天冬酰胺(Asn,N)-谷氨酸(Glu,E)-谷氨酸(Glu,E)-苏氨酸(Thr,T)蛋白家族,所以被命名为 mitoNEET,目前尚无统一的正式中文名称。Wiley 等^[2-3]使用电感耦合等离子体-高分辨率质谱在分析大肠杆菌中表达的 mitoNEET27-108 融合蛋白时发现其中具有高含量的铁元素,证实了 mitoNEET 是一种含铁的蛋白质,其 CDGSH 结构域并不是锌指结构域,实际上是 2Fe-2S 簇。mitoNEET 也因此成为了第一个被鉴定出位于哺乳动物线粒体外膜上的 2Fe-2S 簇蛋白^[4]。mitoNEET 蛋白中的 CDGSH 结构域是指一种特定类型的蛋白质结构域,也被称为 CDGSH 铁硫簇结构域,是 mitoNEET 进行生物学功能的关键部分。其名称来自于 CDGSH 结构域的一个特定序列中的氨基酸,即半胱氨酸(Cys,C)-天冬氨酸(Asp,D)-甘氨酸(Gly,G)-丝氨酸(Ser,S)-组氨酸(His,H)序列。CDGSH 结构域能够与铁硫簇结合,而铁硫簇是许多蛋白质进行电子传递和催化反应的重要辅基。mitoNEET 由 β -cap 结构域和 CDGSH 铁硫簇结构域形成双结构域,构成线粒体外膜独特的二聚体结构^[5-6],可通过控制氧化还原过程参与细胞线粒体的能量代谢^[7]。在亚细胞水平,mitoNEET 被证实是一种 N 端定位于线粒体外膜而 C 端延伸至细胞质中的小分子蛋白质^[8];在组织水平,心脏中的 mitoNEET 表达量最高,在与胰岛素应答、脂代谢密切相关的组织(如骨骼肌、脂肪、肝脏等)中也有着较高的表达。

2 mitoNEET 的生物学功能

2.1 参与调节线粒体功能及氧化应激

mitoNEET 是线粒体功能的有效调节蛋白,能够抑制线粒体铁转运至细胞基质^[9]。由于铁是电子传输的限速成分,抑制铁转运可降低 β 氧化速率,从而降低线粒体膜电位和减少活性氧损伤^[10]。同时,mitoNEET 作为一种胞质 pH 值变化的效应器,可以促进 NADH 氧化以及细胞质中的糖酵解,进而增强细胞的适应性,以应对氧化应激损伤反应。吡格列酮可以通过抑制 mitoNEET 的电子转移活性来

调节线粒体中的能量代谢^[11]。小鼠体内 mitoNEET 的缺失可导致线粒体氧化磷酸化能力降低约 30%^[2]。mitoNEET 诱导的脂质摄取增加伴随着 β 氧化降低,通过减少 ROS 的产生从而保护脂肪组织免受 ROS 诱导的氧化损伤^[10]。在肥胖动物模型中发现,当 ob/ob 小鼠脂肪组织中 mitoNEET 过表达时,小鼠全身炎症标志物显著降低,白色脂肪组织内抗炎相关的 M2 巨噬细胞增多,同时纤维化及氧化应激标志物如 ROS 减少^[12]。mitoNEET 作为线粒体能量代谢的关键调节因子^[13],是治疗代谢相关疾病的潜在治疗靶点^[14-15]。

2.2 参与维持细胞铁稳态

铁稳态对于维持线粒体的正常功能非常关键,铁稳态失衡导致铁超载,最终引发铁相关的氧化应激以及线粒体功能障碍^[16]。mitoNEET 作为线粒体膜蛋白对维持细胞铁稳态至关重要^[17]。mitoNEET 的 2Fe-2S 簇释放会引起线粒体铁超载和 ROS 产生,导致线粒体损伤和细胞死亡。铁死亡诱导剂 Erastin 作用于电压依赖性阴离子通道(voltage-dependent anion channel,VDAC)后,使线粒体外膜的通透性增加,膜离子通道开放,细胞内稳态失衡,导致线粒体代谢及氧化功能紊乱,ROS 生成增加促进脂质过氧化增强,最终引起细胞铁死亡。敲除 mitoNEET 会增加 Erastin 的毒性,引起线粒体中的铁含量和脂质过氧化增加^[18];稳定表达 mitoNEET 则减弱 Erastin 对 VDAC 的影响,降低线粒体脂质过氧化作用,从而抑制细胞铁死亡。因此,抑制细胞中 mitoNEET 的表达会导致线粒体数量减少和铁离子累积,细胞呼吸作用减弱,脂质过氧化反应增强,从而促进铁死亡,而吡格列酮能够与 mitoNEET 的 2Fe-2S 簇稳定结合,从而抑制 Erastin 诱导的铁死亡^[19-20]。但 mitoNEET 参与铁死亡的机制仍未阐明,还需要深入探索(图 1)。

2.3 参与脂肪组织产热

与白色脂肪相比,mitoNEET 在棕色脂肪和血管周围脂肪组织(perivascular adipose tissue,PVAT)中的表达相对较高。而寒冷环境刺激下能够明显增加 mitoNEET 在棕色脂肪和 PVAT 中的表达。棕色脂肪中的 mitoNEET 表达为白色脂肪的 15 倍^[21]。棕色脂肪中 mitoNEET 的高表达与其参与脂肪组织产热有直接的相关性。在 4℃ 冷刺激下,棕色脂肪和 PVAT 中的 mitoNEET 表达含量会明显增加,提示其参与能量代谢及热量生成。在寒冷刺激下,脂肪

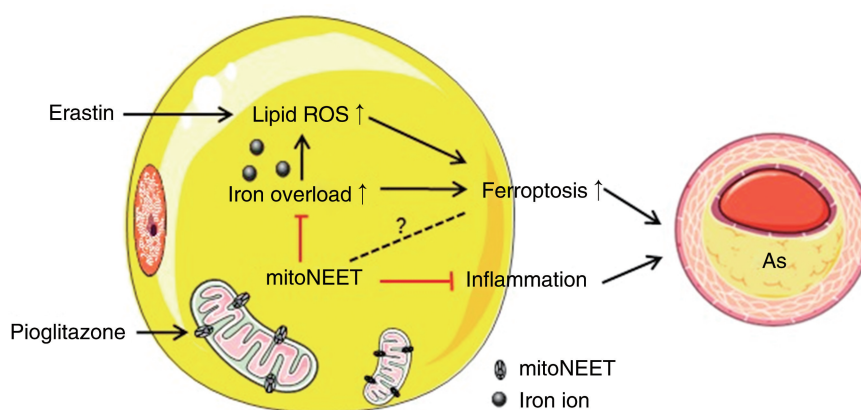


图 1. mitoNEET 维持细胞铁稳态及其与动脉粥样硬化的关系

Figure 1. mitoNEET maintains cellular iron homeostasis and its relationship with atherosclerosis

组织中的 mitoNEET 能够启动棕色化,促进白色脂肪向棕色脂肪转变,但是冷刺激对白色脂肪和富含线粒体的其他器官如骨骼肌、心脏、脑中 mitoNEET 的表达没有明显影响。在 4 °C 环境下,野生型小鼠体温降低明显,而 PVAT 过表达 mitoNEET 的小鼠具有较强的耐寒能力,能够维持体温的相对恒定,且 mitoNEET 参与了白色脂肪棕色化的进程^[22-23]。

2.4 参与代谢调节

脂肪组织中 mitoNEET 的表达增高可提高脂质的摄取和储存能力,改善脂代谢平衡,维持胰岛素敏感性,同时减轻肥胖引起的肝脂肪变性,增强 $\beta 3$ 肾上腺素能激动剂的敏感性^[12]。动物模型研究发现,mitoNEET 过表达会使小鼠脂肪细胞加速脂质摄取,脂肪细胞良性增殖,脂肪细胞堆积,尽管导致了小鼠肥胖,但脂肪组织的扩张具有良性特征,脂肪细胞的大小仍相对正常,ROS 生成显著减少,脂质过氧化损伤减轻,胰岛素敏感性无明显变化。这是因为 mitoNEET 能够抑制线粒体内铁的转运,导致 β 氧化速率减小,线粒体膜电位降低、氧化应激损伤减轻及脂联素分泌增加^[10]。相反,mitoNEET 表达减少则伴有线粒体的数量减少及体积减小,引起细胞呼吸功能减弱等功能障碍,加重氧化应激损伤^[24-25]。虽然 mitoNEET 表达减少的小鼠在高脂饮食条件下体质量的增加明显减少,但同时也会加重氧化应激和葡萄糖不耐受^[10],代谢紊乱伴有线粒体含量降低,进而影响细胞内及全身的脂代谢平衡^[24-25]。通过改变 mitoNEET 的表达水平,可以显著影响细胞和整体脂质代谢的动态。这些发现对肥胖、胰岛素抵抗和 2 型糖尿病发病机制的认识提供了新的视角,说明 mitoNEET 可能成为改善代谢性疾病的潜在治疗靶点^[26]。

3 mitoNEET 可能为动脉粥样硬化性疾病的治疗靶点

脂肪组织特别是 PVAT 中 mitoNEET 过表达能够增加小鼠的产热及能量代谢能力,且明显减轻动脉粥样硬化程度^[21]。与 ApoE^{-/-} 小鼠相比,同在 16 °C 高脂喂养条件下, PVAT 特异性过表达 mitoNEET 的 ApoE^{-/-} 小鼠体内炎症基因的表达明显下调,且血浆甘油三酯和总胆固醇水平明显降低,动脉粥样硬化的发生率明显下降。其机制可能为:在寒冷环境的刺激下,棕色脂肪能量代谢及产热功能被激活提高了血脂清除率,从而减轻动脉粥样硬化。PPAR γ 激动剂吡格列酮能够结合 mitoNEET。小鼠经吡格列酮治疗后可能通过增加 PVAT 中 mitoNEET 的活性,改善 PVAT 的功能,减轻炎症反应,从而减少 2 型糖尿病及动脉粥样硬化相关心血管疾病的发生^[23]。脂肪组织过表达 mitoNEET 可明显减少脂肪细胞纤维化和巨噬细胞浸润。mitoNEET 在 PVAT 中的表达量与动脉粥样硬化呈负相关,在 PVAT 组织中特异性高表达 mitoNEET 能够抑制动脉粥样硬化的形成^[21]。实验数据显示,炎症因子如 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 MCP-1 在 mitoNEET 过表达小鼠的 PVAT 组织中表达降低,这表明 mitoNEET 的抗炎作用可能是减轻动脉粥样硬化的保护机制之一。Chang 等^[23] 研究发现老年小鼠的 PVAT 被去除后会导动脉顺应性下降,血管硬化程度明显上升;通过 PVAT 特异性高表达 mitoNEET 或吡格列酮治疗则能明显降低炎症基因的表达,从而有效地减缓动脉硬化的进程。这表明 mitoNEET 有可能通过保持和/或增加 PVAT 的正常生理功能及抑制炎症,对防治动脉粥样硬化有所帮助。除吡格列酮外,

mitoNEET 还能够与噻唑烷二酮等胰岛素增敏剂特异性结合^[27-28],这使得 mitoNEET 有望成为糖尿病治疗的潜在靶点或者用于预防肥胖性糖尿病患者的动脉粥样硬化的形成。作为一种多功能蛋白, mitoNEET 具有很高的药物研发潜力^[29-30],并可能成为预防和治疗与炎症、氧化应激损伤和脂质代谢紧密相关的疾病,如糖尿病和动脉粥样硬化相关疾病等的潜在治疗靶点。

4 小 结

关于 mitoNEET 与动脉粥样硬化的关系,虽然已有一些初步的研究,但还存在许多未知的领域,未来研究可能会重点关注的几个方向:①深入了解 mitoNEET 的生物学功能。虽然目前已知 mitoNEET 位于线粒体外膜并涉及到线粒体的功能和能量代谢,但关于其确切的生物学功能和作用机制仍然存在许多未知。例如,mitoNEET 如何影响线粒体 ROS 的产生,以及如何影响动脉粥样硬化的进程。②进一步研究 mitoNEET 在动脉粥样硬化的早期和后期等不同发展阶段中的作用。mitoNEET 在不同类型的动脉粥样硬化(如冠状动脉疾病、中风或外周动脉疾病)中的作用可能会有所不同。③将研究从动物模型扩展到人类。目前大多数关于 mitoNEET 的研究都是在动物细胞或动物模型中进行的,需要在人类样本中进行更多的研究,以确定这些发现是否也适用于人类。

总的来说,mitoNEET 与动脉粥样硬化的关系是一个新兴且发展迅速的研究领域。虽然还存在许多未知,但这个领域的研究有可能为动脉粥样硬化的预防和治疗提供新的理解和策略。

[参考文献]

- [1] COLCA J R, MCDONALD W G, WALDON D J, et al. Identification of a novel mitochondrial protein ("mitoNEET") cross-linked specifically by a thiazolidinedione photoprobe [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004, 286(2): E252-E260.
- [2] WILEY S E, MURPHY A N, ROSS S A, et al. MitoNEET is an iron-containing outer mitochondrial membrane protein that regulates oxidative capacity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(13): 5318-5323.
- [3] WILEY S E, PADDOCK M L, ABRESCH E C, et al. The outer mitochondrial membrane protein mitoNEET contains a novel redox-active 2Fe-2S cluster[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(33): 23745-23749.
- [4] FERECATU I, GONCALVES S, GOLINELLI-COHEN M P, et al. The diabetes drug target mitoNEET governs a novel trafficking pathway to rebuild an Fe-S cluster into cytosolic aconitase/iron regulatory protein 1 [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(41): 28070-28086.
- [5] TASNIM H, LANDRY A P, FONTENOT C R, et al. Exploring the FMN binding site in the mitochondrial outer membrane protein mitoNEET [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 156: 11-19.
- [6] OAKLEY K, STERLING K, SHEARER J, et al. Addition to "Controlled protonation of [2Fe-2S] leading to mitoneet analogues and concurrent cluster modification" [J]. *Inorg Chem*, 2023, 62(1): 636.
- [7] MARJAULT H B, YANG-SUNG S, ZUO K, et al. Structure-based screening reveals a ligand that stabilizes the [2Fe-2S] clusters of human mitoNEET and reduces ovarian cancer cell proliferation [J]. *J Phys Chem B*, 2022, 126(46): 9559-9565.
- [8] CONLAN A R, PADDOCK M L, AXELROD H L, et al. The novel 2Fe-2S outer mitochondrial protein mitoNEET displays conformational flexibility in its N-terminal cytoplasmic tethering domain [J]. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*, 2009, 65(Pt 7): 654-659.
- [9] NEWTON E, STARCOVIC SA, MENZE M, et al. Development of a fluorescence screening assay for binding partners of the iron-sulfur mitochondrial protein mitoNEET [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2023, 89: 129310.
- [10] KUSMINSKI C M, HOLLAND W L, SUN K, et al. MitoNEET-driven alterations in adipocyte mitochondrial activity reveal a crucial adaptive process that preserves insulin sensitivity in obesity [J]. *Nat Med*, 2012, 18(10): 1539-1549.
- [11] SONG G, TIAN F, LIU H, et al. Pioglitazone inhibits metal cluster transfer of mitoNEET by stabilizing the labile Fe-N bond revealed at single-bond level [J]. *J Phys Chem Lett*, 2021, 12(15): 3860-3867.
- [12] KUSMINSKI C M, PARK J, SCHERER P E. MitoNEET-mediated effects on browning of white adipose tissue [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3962.
- [13] TAMIR S, PADDOCK M L, DARASH-YAHANA-BARAM M, et al. Structure-function analysis of NEET proteins uncovers their role as key regulators of iron and ROS homeostasis in health and disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(6): 1294-1315.
- [14] BIEGANSKI R M, YARMUSH M L. Novel ligands that target the mitochondrial membrane protein mitoNEET [J]. *J Mol Graph Model*, 2011, 29(7): 965-973.
- [15] WANG Y, LANDRY A P, DING H. The mitochondrial outer membrane protein mitoNEET is a redox enzyme cata-

- lyzing electron transfer from FMNH₂ to oxygen or ubiquinone[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(24): 10061-10067.
- [16] 孔湘柠, 兰 玥, 严文静, 等. 铁死亡在代谢性心血管疾病中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2023, 31(5): 369-374.
- KONG X N, LAN Y, YAN W J, et al. The role of ferroptosis in metabolic cardiovascular diseases[J]. *Chin J Arterioscler*, 2023, 31(5): 369-374.
- [17] SHULGA N, PASTORINO J G. Mitoneet mediates TNF α -induced necroptosis promoted by exposure to fructose and ethanol[J]. *J Cell Sci*, 2014, 127(Pt 4): 896-907.
- [18] YUAN H, LI X, ZHANG X J, et al. C1SD1 inhibits ferroptosis by protection against mitochondrial lipid peroxidation[J]. *BBRC*, 2016, 478(2): 838-844.
- [19] GELDENHUYS W J, LEEPER T C, CARROLL R T. mitoNEET as a novel drug target for mitochondrial dysfunction[J]. *Drug Discov Today*, 2014, 19(10): 1601-1606.
- [20] HUYNH N, OU Q, COX P, et al. Glycogen branching enzyme controls cellular iron homeostasis via iron regulatory protein 1 and mitoNEET[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5463.
- [21] XIONG W H, ZHAO X, GARCIA-BARRIO MT, et al. MitoNEET in perivascular adipose tissue blunts atherosclerosis under mild cold condition in mice [J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 1032.
- [22] PADDOCK M L, WILEY S E, AXELROD H L, et al. MitoNEET is a uniquely folded 2Fe-2S outer mitochondrial membrane protein stabilized by pioglitazone [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(36): 14342-14347.
- [23] CHANG L, ZHAO X J, GARCIA-BARRIO M, et al. MitoNEET in perivascular adipose tissue prevents arterial stiffness in aging mice [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2018, 32(5): 531-539.
- [24] MEHTA J L, RASOULI N, SINHA A K, et al. Oxidative stress in diabetes: a mechanistic overview of its effects on atherogenesis and myocardial dysfunction[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(5-6): 794-803.
- [25] MORINO K, PETERSEN K F, SHULMAN G I. Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction[J]. *Diabetes*, 2006, 55(Suppl 2): S9-S15.
- [26] GELDENHUYS W J, PIKTEL D, MOORE J C, et al. Loss of the redox mitochondrial protein mitoNEET leads to mitochondrial dysfunction in B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 175: 226-235.
- [27] GELDENHUYS W J, YONUTAS HM, MORRIS DL, et al. Identification of small molecules that bind to the mitochondrial protein mitoNEET [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(21): 5350-5353.
- [28] QI Y, HU M, QIU Y, et al. Mitoglitazone ameliorates renal ischemia/reperfusion injury by inhibiting ferroptosis via targeting mitoNEET [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2023, 465: 116440.
- [29] HOANG L G, GOSSEN J, CAPELLI R, et al. Multiple poses and thermodynamics of ligands targeting protein surfaces: The case of furosemide binding to mitoNEET in aqueous solution[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 886568.
- [30] SARALKAR P, ARSIWALA T, GELDENHUYS W J. Nanoparticle formulation and *in vitro* efficacy testing of the mitoNEET ligand NL-1 for drug delivery in a brain endothelial model of ischemic reperfusion-injury [J]. *Int J Pharm*, 2020, 578: 119090.
- (此文编辑 文玉珊)