

线粒体相关内质网膜:心血管疾病治疗的新靶点

董博文, 王子同, 于雪, 李弘, 杨力明

(哈尔滨医科大学, 黑龙江省哈尔滨市 150081)

[专家简介] 杨力明, 教授, 博士研究生导师, 哈尔滨医科大学大庆校区病理学与病理生理学学科带头人。主持国家自然科学基金 5 项, 以第一作者或通信作者发表 SCI 论文 20 余篇; 黑龙江省杰出青年基金获得者; 获龙江学者青年学者、姜必宁奖、黑龙江省青年科技奖等多项荣誉称号; 获黑龙江省医药卫生科学技术奖(自然科学奖)一等奖、黑龙江省科学技术奖(自然科学奖)二等奖。

[关键词] 线粒体相关内质网膜; 心血管疾病; 自噬; 炎症; 钙离子; 细胞凋亡; 活性氧自由基

[摘要] 线粒体相关内质网膜是指内质网和线粒体之间高度动态的紧密连接部分, 参与维持内质网和线粒体的正常功能, 与细胞脂质代谢、钙稳态、线粒体动力学、自噬和凋亡、内质网应激和炎症等密切相关。研究显示线粒体相关内质网膜功能异常或者数量和结构改变参与心血管疾病的发生发展。本文总结了线粒体相关内质网膜的功能, 阐述了其在心血管疾病中的作用及可能机制, 为线粒体相关内质网膜成为心血管疾病治疗的新靶点提供理论参考。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A



Mitochondria-associated ER membranes: a new target for the treatment of cardiovascular diseases

DONG Bowen, WANG Zitong, YU Xue, LI Hong, YANG Liming

(Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150081, China)

[KEY WORDS] mitochondria-associated ER membranes; cardiovascular diseases; autophagy; inflammation; calcium ions; apoptosis; reactive oxygen species

[ABSTRACT] The highly dynamic tight junctions between the endoplasmic reticulum and mitochondria are known as mitochondria-associated ER membranes. These domains are essential for basic biological processes, including lipid metabolism, calcium homeostasis, mitochondrial dynamics, autophagy and apoptosis, endoplasmic reticulum stress and inflammation. Many studies have proved the abnormal amount, structure or function of mitochondria-associated ER membranes are related to the occurrence and development of cardiovascular diseases. This paper summarized the functions of mitochondria-associated ER membranes and its roles and possible mechanism in cardiovascular diseases, and provided theoretical references for mitochondria-associated ER membranes to become new targets for cardiovascular therapy.

心血管疾病是中国人口过早死亡的主要原因, 占总死亡人口的 40% 以上^[1]。线粒体代谢异常在心血管疾病的发展过程中起着重要作用。越来越多的研究证明, 线粒体和其他细胞器如质膜、细胞

核和内质网(endoplasmic reticulum, ER)之间存在物理连接和相互作用, 其中线粒体和内质网最为典型^[2-3]。线粒体和内质网之间高度动态紧密连接的部分被称为线粒体相关内质网膜(mitochondria-asso-

[收稿日期] 2021-07-05

[修回日期] 2021-08-14

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(91939104、82070465 和 82170469); 黑龙江省自然科学基金杰出青年项目(JQ2021H001); 心血管疾病国家重点实验室开放课题资助项目(2019kf-02); 心肌缺血教育部重点实验室开放课题资助项目(KF201908); 黑龙江省卫生健康委面上项目(2020-075)

[作者简介] 董博文, 硕士研究生, 主要研究方向为心血管疾病防治机制, E-mail 为 726604784@qq.com。杨力明, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为生物医学工程介导的心血管疾病防治。

ciated ER membranes, MAM)。MAM 为线粒体与内质网之间的串扰提供了极好的平台,可以在不同的信号传导途径中进行生物分子快速交换,起到抑制炎症反应,调节线粒体功能,维持细胞稳态的作用。此外,MAM 结构及功能障碍与机体的多种病理状况和疾病发生有关^[4]。

1 MAM 参与多种细胞功能的调节

MAM 通过物理连接的平台效应和其独特的脂质和蛋白质发挥调节细胞功能的作用,具体见表 1。

表 1. MAM 中调节细胞功能的相关蛋白

Table 1. Related proteins that regulate cell function in MAM

细胞功能	相关蛋白
炎症反应	NLR 家族 PYRIN 域蛋白 3 (NLR family pyrin domain containing 3, NLRP3) 半胱天冬酶募集结构域凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis associated speck-like protein containing a CARD domain, ASC) 硫氧还蛋白结合蛋白 (thioredoxin-interacting protein, TXNIP)
内质网应激	肌醇酶 1 (inositol-requiring enzyme 1, IRE1)
脂质合成及转移	丝氨酸合酶 1/2 (phosphatidylserine synthase 1/2, PSS1/2) 磷脂酰乙醇胺 N-甲基转移酶 2 (phosphatidylethanolamine N-methyltransferase 2, PEMT2) 长链脂肪酸辅酶 A 连接酶 4 (long chain fatty acid-CoA ligase 4, FACL4) 小窝蛋白 1 (caveolin-1, CAV1)
线粒体动力学	线粒体融合蛋白 1 (mitofusion 1, MFN1) 线粒体融合蛋白 2 (mitofusion 2, MFN2) 视神经萎缩相关蛋白 1 (optic atrophy 1, OPA1) 线粒体动力相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, DRP1)
钙离子转运	1 型肌醇-1, 4, 5-三磷酸受体 (type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, IP3R1) 线粒体外膜电压依赖性阴离子通道 (voltage-dependent anion channels, VDAC) 葡萄糖调节蛋白 75 (glucose regulated protein 75, GRP75) Ryanodine 受体 (Ryanodine receptor, RYR)
细胞凋亡	B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 相关 X 蛋白 Fas 相关死亡域样白介素 1 β 转换酶抑制蛋白 L (cellular fas-associated death domain-like IL-1 β -converting enzyme inhibitory protein L, cFLIPL)
细胞自噬	雷帕霉素靶蛋白复合物 2 (mechanistic target of rapamycin complex 2, mTORC2) 自噬相关蛋白 14 (autophagy-related gene, ATG14) 自噬相关蛋白 5 (autophagy-related gene, ATG5) 小 GTP 酶 Rab32
蛋白质分选	磷酸弗林蛋白酶酸性氨基酸簇分选蛋白 2 (phosphofurin acidic cluster sorting protein-2, PACS-2)

1.1 MAM 与炎性小体

炎性小体是由凋亡相关斑点样蛋白参与组装的多蛋白复合物,各种危险信号引起 NLRP3 寡聚、ASC 募集和 Caspase-1 的自激活以及促炎性细胞因子如 IL-1 β 的分泌和成熟。2011 年,Zhou 等^[5]发现 MAM 与炎症之间存在紧密联系,NLRP3 是目前唯一与 MAM 相关的炎性小体复合物。在心血管疾病中经常伴随过量的活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 产生和 NLRP3 活化,非激活状态的 NLRP3 定位于内质网膜和胞质,激活的 NLRP3 及其衔接子 ASC 都重新定位于 MAM^[5]。研究发现,呼吸链复合物 I 抑制剂鱼藤酮导致线粒体膜电位降低,MAM 处可检测到 ROS 积累,同时炎性小体激

活^[5]。抑制 VDAC、NLRP3 炎性小体的形成也随之降低^[5]。NLRP3 的结合蛋白 TXNIP,在响应氧化应激或 NLRP3 炎性小体激活时,可以重新分布到 MAM 或者线粒体^[6]。

1.2 MAM 与细胞 ROS

MAM 介导了细胞内 ROS 引起的氧化损伤。研究表明,内质网的氧化应激损伤会导致二硫键的异常形成和肽的积累,激活非折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR),介导多种心血管疾病的发生发展^[7]。UPR 通过 IRE1 α 、蛋白激酶 R 样内质网激酶 (protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase, PERK) 和转录激活因子 6 调节内质网的蛋白质折叠能力^[8]。研究发现,在没有 PERK 时,由于 MAM 形

成减少和 ROS 信号向相邻线粒体传输受阻,内质网应激诱导的内源性细胞凋亡减弱,提示在 UPR 发在的早期,MAM 的增加是有益的^[9-10]。MAM 中 IRE1 的存在决定了 IP3R1 的有效性,有利于 Ca^{2+} 向线粒体的转移^[11]。

Booth 等^[12]发现来自内质网的 Ca^{2+} 通量引起线粒体嵴产生大量 ROS,并且在 MAM 处生成氧化还原纳米域。MAM 周围形成的氧化环境可以通过丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)依赖的方式调节线粒体与内质网的连接,从而影响 MAM 所涉及蛋白质的功能^[13]。同时,MAM 为 ROS 的生成提供场所。氧化激活的蛋白激酶 $\text{C}\beta$ (protein kinase $\text{C}\beta$, PKC β) 诱导磷酸化酪氨酸信号适配蛋白(66 kDa isoform of the growth factor adapter Shc, p66Shc)的 36 位丝氨酸磷酸化,使 p66Shc 转移到线粒体或 MAM 进而产生 ROS,促进多种心血管疾病的发展^[14-16]。

1.3 MAM 与脂质合成及转移

MAM 最主要的功能是参与脂质从内质网到线粒体的转移^[17]。MAM 上与脂质代谢有关的蛋白质包括 PEMT2、PSS1/2 及 FACL4^[18],在哺乳动物细胞中,PSS1/2 的磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)从内质网转移到线粒体内膜(inner mitochondrial membrane, IMM)的外表面,由 PS 脱羧酶将 PS 转换为磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamines, PE),并将其转移回内质网,在内质网中 PE 被甲基化转变成细胞膜中最丰富的磷脂酰胆碱(phosphatidyl cholines, PC),在此过程中氧固醇结合蛋白相关蛋白 5(oxysterol-binding protein-related protein 5, ORP5)和氧固醇结合蛋白相关蛋白 8(oxysterol-binding protein-related protein 8, ORP8)参与了磷脂酰丝氨酸从内质网到质膜或 MAM 的转移^[18-20]。此外,磷脂酸在内质网中合成,进而通过 MAM 转移到线粒体,进一步被修饰形成具有心脏保护功能的线粒体心磷脂^[21-22]。

胆固醇在内质网合成后转移到线粒体,是类固醇生物合成的限速步骤,MAM 参与胆固醇和神经酰胺的代谢^[23]。线粒体中的胆固醇被胆固醇侧链裂解酶转换为类固醇的前体孕烯醇酮,进一步合成类固醇,MAM 驻留蛋白在决定和促进胆固醇外排至线粒体中起着关键作用^[24]。质谱法发现 MAM 中特定成分 CAV1 参与胆固醇的细胞内转运,也是 MAM 上胆固醇含量高于内质网和线粒体的根本原因^[25-27]。此外,MAM 上的胆固醇水平对于 MAM 的完整性和功能至关重要。研究发现,CAV1 基因缺

陷时,内质网中异常的胆固醇积累会导致 MAM 的物理延伸减少^[25-26]。这些结果均表明,胆固醇的消耗增强了线粒体和内质网的连接,并减少了与 PE 增加相关的 PS 的从头合成^[28]。

1.4 MAM 与线粒体动力学

MAM 参与线粒体动力学和生物发生的调控,线粒体分裂和融合有关的蛋白质明显富集于 MAM^[29-30]。研究证实 MAM 上存在 DRP1,由两个衔接蛋白构成,即线粒体分裂因子(mitochondrial fission factor, Mff)和线粒体分裂蛋白 1(fission 1, Fis1)^[31]。线粒体融合机制的核心组件是 MFN1、MFN2 和 OPA1, MFN2 不仅位于线粒体外膜,而且位于内质网膜和 MAM^[32]。MFN2 在 MAM 处会产生多种效应,哺乳动物细胞中 MFN2 表达沉默会破坏内质网的形态并减弱线粒体与内质网的相互作用,从而影响线粒体 Ca^{2+} 的吸收^[33-34]。但也有报告显示, MFN2 的缺失增加了内质网到线粒体的 Ca^{2+} 转运,这些差异可能与 MFN2 在不同细胞类型和环境中的 MAM 所扮演的角色不同有关,或是检测 MAM 的方法不同所致^[35]。

1.5 MAM 与细胞凋亡

细胞凋亡与 MAM 介导的 Ca^{2+} 调控密切相关^[36]。内质网和线粒体之间 Ca^{2+} 有效转移是由 IP3R1、VDAC1 以及 GRP75 形成的 VDAC1/GRP75/IP3R1 通道复合物所介导^[37]。已有研究证实 MAM 与 Ca^{2+} 转移的增多可提高细胞对凋亡的敏感性,进入线粒体的 Ca^{2+} 诱导 Bcl-2 相关 X 蛋白的寡聚和激活,从而促进线粒体外膜(outer mitochondrial membrane, OMM)的透化作用,并最终诱导促凋亡因子释放^[36]。已发现 MAM 的其他蛋白质可控制应激细胞中的 Ca^{2+} 通量,细胞内高 Ca^{2+} 介导线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)的开放,促进细胞凋亡,进而促进细胞色素 C(cytochrome C, CytC)释放和 Caspase 激活^[38]。在心肌细胞和平滑肌细胞中,肌质网上的 RYR 也存在于 MAM 中,通过肌质网和内质网钙 ATP 酶(sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase, SERCA)进行 Ca^{2+} 交换,过量的 Ca^{2+} 通过 IP3R1 从内质网流出到线粒体,促进细胞凋亡程序^[39]。此外,MAM 处的 Caspase-8 抑制剂 cFLIPL 可防止 Caspase-8 介导的 NOGO B 切割,从而保持内质网形态和 MAM 的完整性,表明细胞凋亡在 MAM 中受到严格调控^[40]。

线粒体需要从细胞质中准确导入大量蛋白质,脂质在这种“线粒体蛋白质分选”中起着关键作用。

在线粒体脂质中,心磷脂与 IMM 的许多完整膜蛋白相互作用,包括介导线粒体基质中 Ca^{2+} 摄取的线粒体 Ca^{2+} 单向转运蛋白 (mitochondrial calcium uniporter, MCU),而且这是蛋白稳定性和活性所必需^[41-42]。心磷脂主要存在于线粒体内膜,控制着线粒体的关键功能,包括呼吸链的活性和组成,心磷脂通过保留 CytC 来调节线粒体动力学和凋亡^[43-44]。心磷脂水平降低会导致线粒体膜电位破坏,进而阻止膜电位依赖性蛋白易位到线粒体^[45]。此外,在凋亡过程中,心磷脂在 IMM 和 OMM 之间重新分布,氧化诱导凋亡因子的释放^[46-47]。尽管心磷脂易位的分子机制尚未确定,但已有研究证明 MAM 的状态和效率是心磷脂转移以及向 OMM 募集的决定因素^[48]。

1.6 MAM 与自噬

利用电子显微镜和荧光显微镜分析表明,内质网和自噬体的初始分离膜存在共定位^[45]。在饥饿诱导的自噬作用下,细胞形成了自噬前体,即与内质网相连的磷脂酰肌醇 3-磷酸盐区室,这是自噬体形成的基础,而且 OMM 也参与饥饿诱导的自噬体

的生物发生^[45]。MAM 在自噬诱导中发挥关键作用,MFN2 敲除的细胞无法发生自噬^[49]。免疫荧光和电子显微镜检查显示,在饥饿条件下,ATG14 和 ATG5 定位于 MAM^[50]。有研究证明 mTORC2 定位于 MAM,并在其中激活蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt),从而通过 PACS-2 和己糖激酶磷酸化来控制 MAM 的完整性和线粒体的生理功能^[51]。此外,mTORC2-Akt 调节 MAM 处的 IP3R3 磷酸化和 Ca^{2+} 释放^[52]。Rab32 是自噬体形成所必需的 MAM 蛋白,其对于调节 mTORC2 活性至关重要^[51]。PKC β 和 p66Shc 的过表达导致自噬活性降低,并且在自噬调节中相互联系^[52]。PKC β 过表达驱动 p66Shc 磷酸化增强以及 p66Shc 向线粒体转移增加^[53]。同样,源自 PKC β 敲除小鼠的胚胎成纤维细胞表现出 p66Shc 磷酸化和线粒体共定位显著降低^[53]。总之,这些发现可能表明 MAM 在自噬小体形成和自噬活性的调节中起积极作用。MAM 在细胞生理学中的上述功能如图 1 所示。

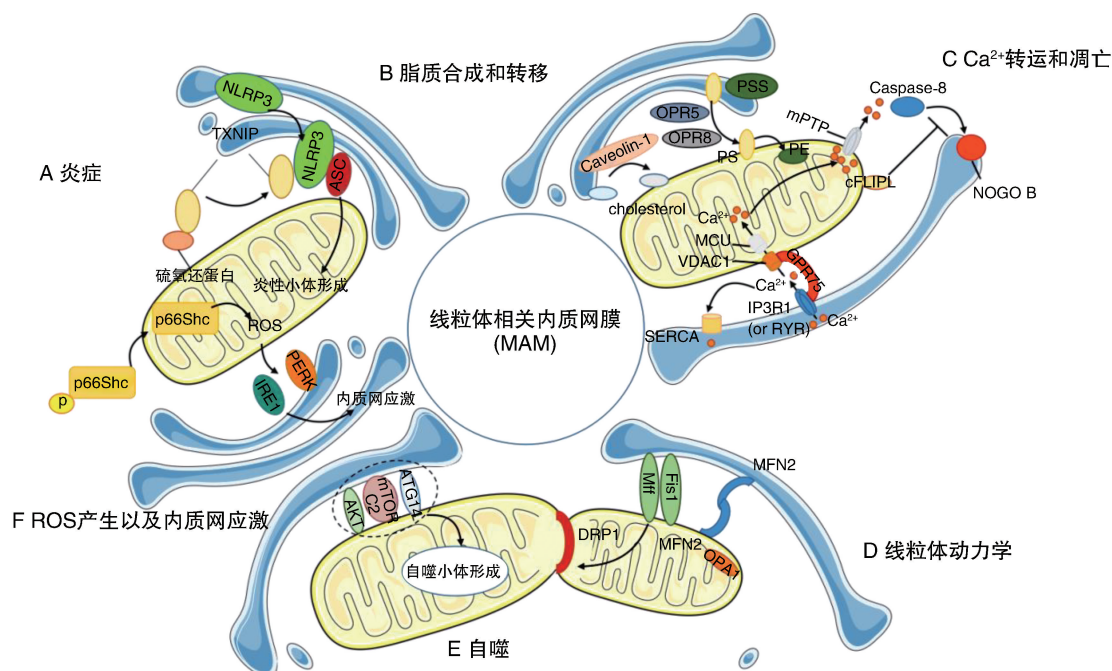


图 1. 线粒体相关的内质网膜和细胞生理学

Figure 1. Mitochondria-associated ER membranes and cell physiology

2 MAM 与心血管疾病

2.1 MAM 与心肌缺血再灌注损伤

心肌缺血再灌注损伤 (ischemia-reperfusion injury, IRI) 的一个重要介质是 mPTP, 线粒体 Ca^{2+} 的

异常增加导致线粒体膜电位下降、线粒体肿胀以及促凋亡因子如 CytC 释放, 从而促进 mPTP 开放^[54-55]。在缺氧复氧损伤和 IRI 的基础上, 肌质网与线粒体的 Ca^{2+} 转移可以加重心脏损伤, 亲环蛋白 D (cyclophilin D, CypD) 作为 mPTP 的调节蛋白与

VDAC1-GRP75-IP3R1 之间的相互作用增强,从而导致线粒体 Ca^{2+} 负荷增加和心肌细胞死亡^[56]。使用 CypD 和 mPTP 双抑制剂 NIM811 或抑制 CypD-IP3R1 相互作用后,可防止成年小鼠心肌细胞中的线粒体 Ca^{2+} 超载和细胞死亡,下调 CypD 或 IP3R1 也可得到类似的结果^[56]。有研究证明,过表达 Bcl-2 相关 X 蛋白抑制剂 1 基因可以通过抑制线粒体 mPTP 开放及细胞凋亡减轻心肌 IRI^[57]。此外, MFN2 的下调通过减少 CypD 和 VDAC1-IP3R1 之间相互作用降低线粒体 Ca^{2+} 过载和细胞损伤^[56]。以上结果提示 MAM 在控制 mPTP 和 Ca^{2+} 通道中扮演重要角色,因此,减少肌质网与线粒体接触可通过减少线粒体 Ca^{2+} 过载来防止 IRI。

此外,糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β) 作为心肌细胞中 Ca^{2+} 转移的重要调节剂,可以与 MAM 位点的 IP3R1-GRP75-VDAC1 复合物相互作用^[58]。SB21 抑制 GSK3 β 可减少复合物的成分,进而影响肌质网与线粒体 Ca^{2+} 转移的相互作用^[59]。应用 GSK3 β 抑制剂 MLS2776 和 MLS2778 能够降低兔和小鼠的梗死面积^[59]。缺血和缺氧严重影响心肌细胞代谢,线粒体动力学作为细胞代谢的主要调节因子,通过调节 mPTP 的开放在 IRI 中发挥重要作用^[60-61]。缺乏 MFN1 和 MFN2 基因小鼠对 mPTP 的开放有抵抗力,可以保护它们免受急性心肌 IRI 并减少梗死面积^[62]。

2.2 MAM 与心力衰竭

线粒体 Ca^{2+} 失调是心力衰竭的主要特征。在去甲肾上腺素诱导的心肌细胞肥大模型中,肌质网与线粒体之间距离增加,一方面,减少了线粒体对 Ca^{2+} 的再摄取,缓冲肌质网 Ca^{2+} 泄漏,另一方面导致线粒体氧化活性降低,迫使心肌细胞代谢进入糖酵解,从而促进肥大的发生^[60,63]。此外,肌质网与线粒体接触减少和 Ca^{2+} 交换效率降低可能是老年小鼠病理性心肌肥厚的先决条件^[64]。通过心脏特异性敲除 RYR2 阻断肌质网与线粒体 Ca^{2+} 转移会导致小鼠自发性心肌肥大和纤维异常增生^[65]。

维持线粒体融合与分裂之间的平衡是维持正常心脏功能的关键,靶向线粒体动力学的治疗可用于预防心脏肥大和心力衰竭。在豚鼠心力衰竭模型中线粒体相关 MFN1 和 MFN2 水平降低,在心脏特异性 MFN2 缺陷小鼠出现中度心肌肥厚^[66-67]。OPA1^{+/-}小鼠中检测到心室功能降低和心脏肥大^[68]。在主动脉压力超负荷小鼠模型中,线粒体分裂抑制剂 1 (mitochondrial division inhibitor-1, Mdivi-

1) 治疗可以减少心脏纤维化和左心室功能障碍,且依赖 DRP1 的线粒体自噬对压力超负荷引起的心力衰竭具有保护作用^[69-70]。在新生大鼠心肌细胞中过表达显性失活的 DRP1 可防止线粒体损伤和去甲肾上腺素诱导的肥大^[71]。在没有其他外部刺激的情况下,降低 MFN2 水平可以诱导肥大的心肌细胞生长^[71]。

2.3 MAM 与糖尿病性心脏病

在 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 小鼠模型中,内质网与线粒体相互作用的破坏出现在线粒体功能障碍和胰岛素抵抗之前^[72]。研究发现,与对照组相比,T2DM 受试者的 IP3R-VDAC1 复合物数量显著减少;利用 TEM 图像定量分析,糖尿病秋田小鼠心脏中肌质网与线粒体之间的关联显著增加;共聚焦成像和皮尔逊相关系数分析表明,高糖处理的新生小鼠心肌细胞中 MAM 的形成增加^[73-74]。线粒体自噬受体 FUNDC1 是定位于线粒体外膜的一种受体蛋白,高糖显著增加了新生小鼠心肌细胞中 FUNDC1 和 2 型肌醇-1,4,5-三磷酸受体的表达^[74]。与非糖尿病供体相比,糖尿病患者心脏组织中 FUNDC1 水平显著升高,FUNDC1 的缺失减少了糖尿病秋田小鼠心脏中 MAM 的形成,提示糖尿病诱导的心脏 MAM 形成需要 FUNDC1;心脏特异性 FUNDC1 缺失可以防止糖尿病小鼠链脲佐菌素诱导的心脏异常,保持心脏正常功能^[74]。由此可以推测,高糖环境下 MAM 的增加可能导致线粒体钙超载,损伤线粒体功能,这是高糖影响心脏功能的关键因素。

抗糖尿病药物二甲双胍可激活腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK),通过恢复小鼠线粒体和心脏超微结构改善心脏功能,降低糖尿病患者心肌梗死的发生率^[75-76]。AMPK 的失活通过增加与 FUNDC1 相关的 MAM 导致糖尿病性心脏病,降低 FUNDC1 的表达可以观察到 AMPK 对 MAM 形成的抑制作用^[74,77]。此外,糖饥饿条件下,大量 AMPK 从胞质转移到 MAM 和线粒体,在发生线粒体裂变时,可直接与 MFN2 相互作用以启动自噬^[78]。以上研究提示二甲双胍对心血管的保护作用可能取决于其对 MAM 形成的调节。

2.4 MAM 与动脉粥样硬化

Moulis 等^[79]使用高分辨率共聚焦显微镜和邻近连接分析发现,在高脂诱导的动脉粥样硬化模型中,血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMC) 的 MAM 增加。MFN2 在 VSMC 从收缩和静止表型向过度增殖和迁移表型转变中发挥作用。

在自发性高血压大鼠或球囊损伤模型, 动脉 VSMC 显示出较高的增殖率和较低的 MFN2 水平^[80-81]。在大鼠主动脉 VSMC 中, MFN2 在 G0/G1 期增加, 使得线粒体伸长和 MAM 增加, 而且 MFN2 的过表达与 G0/G1 期阻滞和肌质网与线粒体接触位点的数量增加有关^[82]。相反, MFN2 基因敲除与 S 期细胞的增加、线粒体损伤以及肌质网与线粒体接触位点的减少有关^[82]。DRP1 在人颈动脉的钙化区域富集, 并且 DRP1 缺失的杂合子小鼠在动脉粥样硬化模型中抵抗血管钙化, Mdivi-1 或显性失活的 DRP1 的表达可以抑制线粒体裂变, 防止 VSMC 在高糖、血管紧张素 II 输注或血小板源性生长因子刺激下的过度增殖^[80, 83-86]。此外, 显性失活 DRP1 的小鼠显示出对血管损伤后内膜血管增生的保护作用^[80]。

3 总结与展望

细胞器之间的相互作用通过影响细胞功能进而参与多种心血管疾病的发生和发展。MAM 介导的从内质网向线粒体的 Ca^{2+} 转移影响心血管细胞的能量代谢模式, 与心肌细胞肥大、VSMC 表型转变和增殖有关; MAM 的 Ca^{2+} 转移影响局部胞质 Ca^{2+} 浓度, 诱导促肥大 Ca^{2+} 信号传导和收缩反应; MAM 通过调节脂质和 Ca^{2+} 转移触发与内质网和线粒体相关的细胞行为, 如线粒体 Ca^{2+} 超载引起的内质网应激和细胞凋亡; MAM 通过募集关键信号分子和效应蛋白作为炎性小体和线粒体分裂发生的平台。研究表明 MAM 介导的线粒体功能变化在心血管疾病初期已经存在, 因此早期针对 MAM 的形成和功能进行干预, 成为心血管疾病治疗的新思路。

[参考文献]

- [1] 杜杰, 李玉琳, 李扬. 心血管疾病防治的转化医学研究——青年冠心病精准防治的困境与转化医学研究方案[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(2): 93-97.
- [2] PERNAS L, SCORRANO L. Mito-morphosis: mitochondrial fusion, fission, and cristae remodeling as key mediators of cellular function[J]. *Ann Rev Physiol*, 2016, 78: 505-531.
- [3] LACKNER L L. The expanding and unexpected functions of mitochondria contact sites[J]. *Trends Cell Biol*, 2019, 29(7): 580-590.
- [4] MISSIROLI S, PATERGNANI S, CAROCCIA N, et al. Mitochondria-associated membranes (MAM) and inflammation[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 329.
- [5] ZHOU R, YAZDI A S, MENU P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation[J]. *Nature*, 2011, 469(7329): 221-225.
- [6] ZHOU R, TARDIVEL A, THORENS B, et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(2): 136-140.
- [7] ZEESHAN H M, LEE G H, KIM H R, et al. Endoplasmic reticulum stress and associated ROS[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3): 327.
- [8] SONG S, TAN J, MIAO Y, et al. Crosstalk of ER stress-mediated autophagy and ER-phagy: involvement of UPR and the core autophagy machinery[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5): 3867-3874.
- [9] BRAVO R, VICENCIO J M, PARRA V, et al. Increased ER-mitochondrial coupling promotes mitochondrial respiration and bioenergetics during early phases of ER stress[J]. *J Cell Sci*, 2011, 124(Pt 13): 2143-2152.
- [10] VERFAILLIE T, RUBIO N, GARG A D, et al. PERK is required at the ER-mitochondrial contact sites to convey apoptosis after ROS-based ER stress[J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(11): 1880-1891.
- [11] CARRERAS-SUREDA A, JAÑA F, URRÁ H, et al. Non-canonical function of IRE1 α determines mitochondria-associated endoplasmic reticulum composition to control calcium transfer and bioenergetics[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(6): 755-767.
- [12] BOOTH D M, ENYEDI B, GEISZT M, et al. Redox nanodomains are induced by and control calcium signaling at the ER-mitochondrial interface[J]. *Molecular cell*, 2016, 63(2): 240-248.
- [13] DEBATTISTI V, GERENCSEK A A, SAOTOME M, et al. ROS control mitochondrial motility through p38 and the motor adaptor Miro/Trak[J]. *Cell reports*, 2017, 21(6): 1667-1680.
- [14] PINTON P, RIMESSI A, MARCHI S, et al. Protein kinase C β and prolyl isomerase 1 regulate mitochondrial effects of the life-span determinant p66Shc[J]. *Science (New York, NY)*, 2007, 315(5812): 659-663.
- [15] AKHMEDOV A, MONTECUCCO F, BRAUNERSREUTHER V, et al. Genetic deletion of the adaptor protein p66Shc increases susceptibility to short-term ischaemic myocardial injury via intracellular salvage pathways[J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(8): 516-526a.
- [16] BOENGLER K, BORNBAUM J, SCHLÜTER K D, et al. p66Shc and its role in ischemic cardiovascular diseases[J]. *Basic Res Cardiol*, 2019, 114(4): 29.
- [17] VANCE J E. Phospholipid synthesis in a membrane fraction associated with mitochondria[J]. *J Biol Chem*, 1990, 265(13): 7248-7256.
- [18] FLIS V V, DAUM G. Lipid transport between the endoplasmic reticulum and mitochondria[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(6): a013235.
- [19] VANCE J E. MAM (mitochondria-associated membranes) in mammalian cells: lipids and beyond[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1841(4): 595-609.
- [20] GALMES R, HOUCINE A, VAN VLIET A R, et al. ORP5/ORP8 localize to endoplasmic reticulum-mitochondria contacts and are involved in mitochondrial function[J]. *EMBO Rep*, 2016, 17(6): 800-810.
- [21] DENNIS E A, KENNEDY E P. Intracellular sites of lipid synthesis and the biogenesis of mitochondria[J]. *J Lipid Res*, 1972, 13(2): 263-267.
- [22] OSMAN C, VOELKER D R, LANGER T. Making heads or tails of phospholipids in mitochondria[J]. *J Cell Biol*, 2011, 192(1): 7-16.
- [23] BIONDA C, PORTOUKALIAN J, SCHMITT D, et al. Subcellular compartmentalization of ceramide metabolism: MAM (mitochondria-

- associated membrane) and/or mitochondria[J]. *Biochem J*, 2004, 382(Pt 2): 527-533.
- [24] ISSOP L, FAN J, LEE S, et al. Mitochondria-associated membrane formation in hormone-stimulated Leydig cell steroidogenesis: role of ATAD3[J]. *Endocrinology*, 2015, 156(1): 334-345.
- [25] BOSCH M, MARÍ M, HERMS A, et al. Caveolin-1 deficiency causes cholesterol-dependent mitochondrial dysfunction and apoptotic susceptibility[J]. *Curr Biol*, 2011, 21(8): 681-686.
- [26] SALA-VILA A, NAVARRO-LÉRIDA I, SÁNCHEZ-ALVAREZ M, et al. Interplay between hepatic mitochondria-associated membranes, lipid metabolism and caveolin-1 in mice[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 27351.
- [27] HAYASHI T, FUJIMOTO M. Detergent-resistant microdomains determine the localization of sigma-1 receptors to the endoplasmic reticulum-mitochondria junction[J]. *Mol Pharmacol*, 2010, 77(4): 517-528.
- [28] FUJIMOTO M, HAYASHI T, SU T P. The role of cholesterol in the association of endoplasmic reticulum membranes with mitochondria[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 417(1): 635-639.
- [29] FRIEDMAN J R, LACKNER L L, WEST M, et al. ER tubules mark sites of mitochondrial division[J]. *Science(New York, NY)*, 2011, 334(6054): 358-362.
- [30] SCHON E A, AREA-GOMEZ E. Mitochondria-associated ER membranes in Alzheimer disease[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2013, 55: 26-36.
- [31] WESTERMANN B. Mitochondrial fusion and fission in cell life and death[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(12): 872-884.
- [32] KOSHIBA T, DETMER S A, KAISER J T, et al. Structural basis of mitochondrial tethering by mitofusin complexes[J]. *Science(New York, NY)*, 2004, 305(5685): 858-862.
- [33] DE BRITO O M, SCORRANO L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria[J]. *Nature*, 2008, 456(7222): 605-610.
- [34] NAON D, ZANINELLO M, GIACOMELLO M, et al. Critical reappraisal confirms that mitofusin 2 is an endoplasmic reticulum-mitochondria tether[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(40): 11249-11254.
- [35] FILADI R, PENDIN D, PIZZO P. Mitofusin 2: from functions to disease[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 330.
- [36] PATERGNANI S, SUSKI J M, AGNOLETTI C, et al. Calcium signaling around mitochondria associated membranes(MAMs)[J]. *Cell Commun Signal*, 2011, 9: 19.
- [37] SZABADKAI G, BIANCHI K, VÁRNAI P, et al. Chaperone-mediated coupling of endoplasmic reticulum and mitochondrial Ca^{2+} channels[J]. *J Cell Biol*, 2006, 175(6): 901-911.
- [38] BONORA M, BONONI A, DE MARCHI E, et al. Role of the c subunit of the FO ATP synthase in mitochondrial permeability transition[J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(4): 674-683.
- [39] EISNER V, CSORDÁS G, HAJNÓCZKY G. Interactions between sarco-endoplasmic reticulum and mitochondria in cardiac and skeletal muscle-pivotal roles in Ca^{2+} and reactive oxygen species signaling[J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 14): 2965-2978.
- [40] MARINI E S, GIAMPIETRI C, PETRUNGARO S, et al. The endogenous Caspase-8 inhibitor c-FLIPL regulates ER morphology and crosstalk with mitochondria[J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(7): 1131-1143.
- [41] MUSATOV A, SEDLÁK E. Role of cardiolipin in stability of integral membrane proteins[J]. *Biochimie*, 2017, 142: 102-111.
- [42] GHOSH S, BASU BALL W, MADARIS T R, et al. An essential role for cardiolipin in the stability and function of the mitochondrial calcium uniporter[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(28): 16383-16390.
- [43] CLAYPOOL S M, KOEHLER C M. The complexity of cardiolipin in health and disease[J]. *Trends Biochem Sci*, 2012, 37(1): 32-41.
- [44] HSU P, SHI Y. Regulation of autophagy by mitochondrial phospholipids in health and diseases[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2017, 1862(1): 114-129.
- [45] GIORGI C, MISSIROLI S, PATERGNANI S, et al. Mitochondria-associated membranes: composition, molecular mechanisms, and physiopathological implications[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22(12): 995-1019.
- [46] GARCIA FERNANDEZ M, TROIANO L, MORETTI L, et al. Early changes in intramitochondrial cardiolipin distribution during apoptosis[J]. *Cell Growth Differ*, 2002, 13(9): 449-455.
- [47] KAGAN V E, TYURIN V A, JIANG J, et al. Cytochrome c acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors[J]. *Nat Chem Biol*, 2005, 1(4): 223-232.
- [48] HORVATH S E, DAUM G. Lipids of mitochondria[J]. *Prog Lipid Res*, 2013, 52(4): 590-614.
- [49] HAILEY D W, RAMBOLD A S, SATPUTE-KRISHNAN P, et al. Mitochondria supply membranes for autophagosome biogenesis during starvation[J]. *Cell*, 2010, 141(4): 656-667.
- [50] HAMASAKI M, FURUTA N, MATSUDA A, et al. Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites[J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 389-393.
- [51] BETZ C, STRACKA D, PRESCIANTOTTO-BASCHONG C, et al. Feature Article: mTOR complex 2-Akt signaling at mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes(MAM) regulates mitochondrial physiology[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(31): 12526-12534.
- [52] COLOMBI M, MOLLE K D, BENJAMIN D, et al. Genome-wide shRNA screen reveals increased mitochondrial dependence upon mTORC2 addiction[J]. *Oncogene*, 2011, 30(13): 1551-1565.
- [53] PATERGNANI S, MARCHI S, RIMESSI A, et al. PRKCB/protein kinase C beta and the mitochondrial axis as key regulators of autophagy[J]. *Autophagy*, 2013, 9(9): 1367-1385.
- [54] HAUSENLOY D J, YELLON D M. The mitochondrial permeability transition pore; its fundamental role in mediating cell death during ischaemia and reperfusion[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2003, 35(4): 339-341.
- [55] ONG S B, SAMANGOUËI P, KALKHORAN S B, et al. The mitochondrial permeability transition pore and its role in myocardial ischemia reperfusion injury[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 78: 23-34.
- [56] PAILLARD M, TUBBS E, THIEBAUT P A, et al. Depressing mitochondria-reticulum interactions protects cardiomyocytes from lethal hypoxia-reoxygenation injury[J]. *Circulation*, 2013, 128(14): 1555-1565.
- [57] 钟小兰, 班努·库肯, 景江新. 过表达 Bax 抑制剂 1 通过抑制线粒体通透性转换孔开放及细胞凋亡减轻心肌缺血再灌注损

- 伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(3): 222-231.
- [58] GOMEZ L, THIEBAUT P A, PAILLARD M, et al. The SR/ER-mitochondria calcium crosstalk is regulated by GSK3 β during reperfusion injury[J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(2): 313-322.
- [59] NIKOLAOU P E, BOENGLER K, EFENTAKIS P, et al. Investigating and re-evaluating the role of glycogen synthase kinase 3 beta kinase as a molecular target for cardioprotection by using novel pharmacological inhibitors[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(7): 1228-1243.
- [60] BERTERO E, MAACK C. Metabolic remodelling in heart failure [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(8): 457-470.
- [61] ONG S B, SUBRAYAN S, LIM S Y, et al. Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia/reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2010, 121(18): 2012-2022.
- [62] HALL A R, BURKE N, DONGWORTH R K, et al. Hearts deficient in both Mfn1 and Mfn2 are protected against acute myocardial infarction[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(5): e2238.
- [63] GUTIÉRREZ T, PARRA V, TRONCOSO R, et al. Alteration in mitochondrial Ca²⁺ uptake disrupts insulin signaling in hypertrophic cardiomyocytes[J]. *Cell Commun Signal*, 2014, 12: 68.
- [64] FERNANDEZ-SANZ C, RUIZ-MEANA M, MIRO-CASAS E, et al. Defective sarcoplasmic reticulum-mitochondria calcium exchange in aged mouse myocardium[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(12): e1573.
- [65] BROUND M J, WAMBOLT R, LUCIANI D S, et al. Cardiomyocyte ATP production, metabolic flexibility, and survival require calcium flux through cardiac ryanodine receptors in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(26): 18975-18986.
- [66] GOH K Y, QU J, HONG H, et al. Impaired mitochondrial network excitability in failing guinea-pig cardiomyocytes [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 109(1): 79-89.
- [67] PAPANICOLAOU K N, KHAIRALLAH R J, NGOH G A, et al. Mitofusin-2 maintains mitochondrial structure and contributes to stress-induced permeability transition in cardiac myocytes[J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(6): 1309-1328.
- [68] PIQUEREAU J, CAFFIN F, NOVOTOVA M, et al. Down-regulation of OPA1 alters mouse mitochondrial morphology, PTP function, and cardiac adaptation to pressure overload [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(3): 408-417.
- [69] GIVVIMANI S, MUNJAL C, TYAGI N, et al. Mitochondrial division/mitophagy inhibitor (Mdivi) ameliorates pressure overload induced heart failure[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e32388.
- [70] SHIRAKABE A, ZHAI P, IKEDA Y, et al. Drp1-dependent mitochondrial autophagy plays a protective role against pressure overload-induced mitochondrial dysfunction and heart failure[J]. *Circulation*, 2016, 133(13): 1249-1263.
- [71] PENNANEN C, PARRA V, LÓPEZ-CRISOSTO C, et al. Mitochondrial fission is required for cardiomyocyte hypertrophy mediated by a Ca²⁺-calcineurin signaling pathway[J]. *J Cell Sci*, 2014, 127(Pt 12): 2659-2671.
- [72] TUBBS E, CHANON S, ROBERT M, et al. Disruption of mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane (MAM) integrity contributes to muscle insulin resistance in mice and humans [J]. *Diabetes*, 2018, 67(4): 636-650.
- [73] THIVOLET C, VIAL G, CASSEL R, et al. Reduction of endoplasmic reticulum-mitochondria interactions in beta cells from patients with type 2 diabetes[J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0182027.
- [74] WU S, LU Q, DING Y, et al. Hyperglycemia-driven inhibition of AMP-activated protein kinase α 2 induces diabetic cardiomyopathy by promoting mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes in vivo[J]. *Circulation*, 2019, 139(16): 1913-1936.
- [75] XIE Z, LAU K, EBY B, et al. Improvement of cardiac functions by chronic metformin treatment is associated with enhanced cardiac autophagy in diabetic OVE26 mice[J]. *Diabetes*, 2011, 60(6): 1770-1778.
- [76] GRIFFIN S J, LEAVER J K, IRVING G J. Impact of metformin on cardiovascular disease: a Meta-analysis of randomised trials among people with type 2 diabetes [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(9): 1620-1629.
- [77] WEI X, WEI X, LU Z, et al. Activation of TRPV1 channel antagonizes diabetic nephropathy through inhibiting endoplasmic reticulum-mitochondria contact in podocytes [J]. *Metabolism*, 2020, 105: 154182.
- [78] 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.
- [79] MOULIS M, GROUSSET E, FACCINI J, et al. The multifunctional sorting protein PACS-2 controls mitophagosome formation in human vascular smooth muscle cells through mitochondria-ER contact sites [J]. *Cells*, 2019, 8(6): 638.
- [80] WANG L, YU T, LEE H, et al. Decreasing mitochondrial fission diminishes vascular smooth muscle cell migration and ameliorates intimal hyperplasia[J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 106(2): 272-283.
- [81] TORRES G, MORALES P E, GARCÍA-MIGUEL M, et al. Glucagon-like peptide-1 inhibits vascular smooth muscle cell dedifferentiation through mitochondrial dynamics regulation [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 104: 52-61.
- [82] LI D, LI X, GUAN Y, et al. Mitofusin-2-mediated tethering of mitochondria and endoplasmic reticulum promotes cell cycle arrest of vascular smooth muscle cells in G0/G1 phase [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2015, 47(6): 441-450.
- [83] SALABEI J K, HILL B G. Mitochondrial fission induced by platelet-derived growth factor regulates vascular smooth muscle cell bioenergetics and cell proliferation[J]. *Redox Biol*, 2013, 1(1): 542-551.
- [84] MAIMAITIJANG A, ZHUANG X, JIANG X, et al. Dynamin-related protein inhibitor downregulates reactive oxygen species levels to indirectly suppress high glucose-induced hyperproliferation of vascular smooth muscle cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 471(4): 474-478.
- [85] ROGERS M A, MALDONADO N, HUTCHESON J D, et al. Dynamin-related protein 1 inhibition attenuates cardiovascular calcification in the presence of oxidative stress[J]. *Circ Res*, 2017, 121(3): 220-233.
- [86] COOPER H A, CICALESE S, PRESTON K J, et al. Targeting mitochondrial fission as a potential therapeutic for abdominal aortic aneurysm[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(3): 971-982.