

◇ 综述 ◇

线粒体在急性脊髓损伤中的作用研究进展

沈娟,赵琳,郝琴,杨彦玲

(延安大学医学院,陕西 延安 716000)

摘要:线粒体是真核细胞重要的细胞器,与损伤性疾病的发生密切相关。急性脊髓损伤(SCI)后可引起线粒体膜电位及形态的改变,造成线粒体功能障碍,能量合成受限,加剧了SCI的继发性改变。该文对线粒体在急性SCI中的作用作一简单综述,旨在深入认识其功能,并为急性SCI的治疗提供一定参考。

关键词:急性脊髓损伤;线粒体功能障碍

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.05.001

Research advances in the role of mitochondria in acute spinal cord injury

SHEN Juan,ZHAO Lin,HAO Qin,YANG Yanling

(Medical College of Yan'an University,Yan'an,Shaanxi 716000,China)

Abstract: Mitochondria are important organelles within eukaryocytes and closely related to injured diseases. Acute spinal cord injury (SCI) can make a change with mitochondrial membrane potential and morphology, causing mitochondrial dysfunction, and limiting the energy synthesis. At last, it aggravates the secondary damage of SCI. In this paper, we will review the role of mitochondria in acute SCI in order to explore its function, and to provide certain reference for the treatment of acute spinal cord injury.

Keywords: acute spinal cord injury; mitochondria dysfunction

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是中枢神经系统的严重创伤,因较高的致残率和病死率,及高额的治疗、护理和康复费用,给患者和社会带来沉重负担,因此一直成为医学领域的热门课题^[1-3],其病因最常见的是交通事故,且伤者多为青壮年。SCI后患者可出现失眠、抑郁等精神障碍也可发生膀胱、胃肠功能紊乱和呼吸、心血管等系统的疾病。但到目前为止,临床上尚无行之有效的方法帮助患者进行神经功能恢复^[4]。因此,寻找和开发新的治疗策略成为SCI治疗的首要任务。

1 线粒体与急性SCI的关系

1.1 急性SCI后线粒体的改变

1.1.1 线粒体膜电位及形态的改变 急性SCI后可引起线粒体功能障碍。贾志强等^[5]研究发现SCI后4 h神经细胞线粒体膜电位开始下降,造成线粒体通透性转运孔(mtPTP)处于失活状态,电子传递和氧化磷酸化功能受阻,使三磷酸腺苷合成减少,ATP酶活性降低导致线粒体内外离子平衡紊乱,

Ca²⁺超载;同时,电镜观察发现SCI后急性期线粒体形态发生改变,在损伤后4~8 h,线粒体的体积和内部结构均产生明显改变,如线粒体水肿,嵴变平或消失。随损伤时间的延长,最终造成线粒体膜破裂、线粒体空泡化等严重损伤,这与国外学者^[6]的报道一致。

1.1.2 造成线粒体功能障碍 脊髓缺血时氧供应中断,部分线粒体的电子传递链没有足够的氧供应,使ATP分解成次黄嘌呤、ADP和AMP,导致线粒体能量代谢障碍。由于细胞内ATP、磷酸肌酸产生严重减少,使离子泵的功能受限,Na⁺-K⁺-ATP酶、Ca²⁺-ATP酶和Mg²⁺-ATP酶的活性显著下降,导致细胞内Na⁺滞留,Ca²⁺超载,羟自由基(-OH)和活性氧(ROS)堆积。而ROS能抑制线粒体电子传递链中复合酶的活性,因而呼吸功能显著受到抑制。已有研究证实,SCI后线粒体呼吸控制率(RCR)、线粒体的膜电位($\Delta\Psi_m$)显著降低,电子传递功能减弱及氧化磷酸化水平降低,ATP酶活性减低,最终线粒体内Ca²⁺超载,这进一步抑制氧化磷酸化反应^[7]。

1.2 线粒体在急性SCI中的作用

1.2.1 提供能量代谢 线粒体为真核细胞最大的细胞器,也是唯一能产生能量的细胞器,在急性损

基金项目:国家自然科学基金(81760235);陕西省教育厅项目(17JK0863);延安大学研究生创新项目(2016-32)

通信作者:杨彦玲,女,教授,硕士生导师,研究方向:中枢神经再生与修复, E-mail: yangyanling8889@163.com

伤和创伤中对细胞周围环境变化极为敏感,其主要作用是通过氧化磷酸化生成 ATP,为细胞正常生命活动提供能量。如上所述,SCI 后急性期线粒体在结构和形态上发生明显改变,能量代谢功能明显受损。

1.2.2 参与氧化应激反应 氧化应激是氧自由基及其代谢产物过度积累,损害机体抗氧化防御系统的病理状态。活性氧(ROS)是引发氧化应激的主要因素,包括过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)等。生理情况下,细胞内 ROS 处于低水平,对细胞没有伤害,当药物刺激、营养缺乏时,细胞内 ROS 增加。

急性 SCI 后,线粒体内 Ca^{2+} 急剧升高,自由基生成明显增多而清除能力下降,导致 ROS 大量堆积。而过量的 ROS 损伤蛋白质、脂质、DNA 以及刺激产生炎症反应。除此,ROS 的快速增加可导致 mtPTP 开放,使细胞由可逆性损伤转化为不可逆性损伤,进一步加重继发性损害。同时,线粒体能量代谢异常还使自由基等一系列活性氧增加,诱发线粒体氧化损伤^[8],使线粒体内外膜受损,这又会加剧线粒体的功能障碍,如此形成一个恶性损伤循环^[9]。

1.2.3 介导神经细胞凋亡 目前,真核细胞主要由四种途径诱导凋亡:死亡受体、线粒体、B 粒酶和内质网应激。当细胞受到 DNA 损伤、氧化应激等细胞凋亡刺激因子刺激时,可激活线粒体凋亡途径,诱导细胞凋亡。在内源性线粒体凋亡途径中,线粒体外膜的通透性增强引起细胞色素 C 向胞质释放,激活白细胞介素-2(Bcl-2),诱导凋亡发生。大量研究已表明,急性 SCI 后线粒体损伤导致细胞色素 C 等凋亡分子的释放是细胞凋亡的关键^[10]。而细胞色素 C 是嵌入在线粒体内膜上的蛋白,在线粒体呼吸链中起传递电子的作用。急性 SCI 导致线粒体氧化应激,引起多种促凋亡因子的释放,激活 caspase-3,最终导致细胞凋亡^[11]。

2 线粒体自噬对 SCI 的保护作用

线粒体自噬是在 ROS 堆积、营养缺乏和细胞衰老等刺激下,细胞将受损和多余的线粒体特异性包裹进自噬体中,选择性地进行降解和清除的过程。线粒体自噬在红细胞的分化成熟、神经退行性疾病、缺氧中也发挥重要的调控作用。急性 SCI 后,造成损伤区脊髓组织线粒体不同程度的受损,而增强线粒体自噬作用则可以清除过量的 ROS 和受损的线粒体。于大堂^[12]的研究揭示,急性 SCI 后线粒体自噬相关蛋白 BNIP3、NIX 在 SCI 后表达增高,并且

神经元自噬以及线粒体自噬被诱导激活,这与 Yu 等^[13]研究结果一致,说明短时间内增强线粒体自噬对 SCI 修复具有促进作用。

3 线粒体相关蛋白对神经细胞的保护作用

3.1 线粒体膜蛋白

3.1.1 线粒体 CB1 (mtCB1) 大麻素受体属于 G 蛋白偶联受体超家族。以往的研究认为,大麻素 CB1 受体最主要表达于 CB1,主要分布在中枢神经系统的脑和脊髓中的神经元细胞膜上,分布于突触前 GABA 能中间神经元和谷氨酸能神经元。一项研究发现,小鼠神经元线粒体外膜上同样存在 CB1 受体,即 mtCB1 受体,在生理状态下激活后可直接调节线粒体的呼吸作用和能量代谢过程^[14]。通过激活 mtCB1,外源性和内源性大麻素可降低神经元线粒体环磷酸腺苷的浓度、蛋白激酶 A 活性及神经元内线粒体复合体 V 的酶活性和呼吸功能。因此,mtCB1 能够直接调节神经系统线粒体功能,表明 mtCB1 对神经元具有神经保护作用^[15]。

3.1.2 线粒体融合蛋白-2(Mfn2) Mfn2 是一种具有三磷酸鸟苷酶(GT-Pase)活性的动力相关蛋白,广泛分布于线粒体外膜和线粒体-内质网链接网的网膜上。Mfn2 主要通过调节线粒体呼吸链复合体亚基的表达和氧化磷酸化过程来影响线粒体能量生产与代谢,下调 Mfn2 可引起线粒体膜电位下降、氧化磷酸化过程减弱等现象。其次,Mfn2 也可通过促进自噬体的形成、活化及成熟来参与线粒体自噬过程的发生,Mfn2 表达水平的降低会导致细胞自噬体不能被溶酶体及时降解,诱发线粒体结构破坏,能量合成受阻^[16]。也有研究发现,在细胞凋亡中发挥重要作用的可溶性蛋白 Bax,通过与线粒体表面的 Mfn2 选择性相互作用,引起 Mfn2 构象变化进而促进线粒体融合^[17]。大量研究证实,Mfn2 除介导线粒体融合外,还参与细胞能量代谢、信号转导、增殖及凋亡等细胞生物学过程。张帆^[18]最新研究表明,Mfn2 过表达可以抑制谷氨酸受体介导的线粒体损害和神经细胞死亡,揭示 Mfn2 活化对神经细胞具有保护作用。

3.2 线粒体基质和间隙蛋白

3.2.1 沉默信息调节转录因子 3(SIRT3) SIRT3 是 Sirtuins 蛋白家族的成员之一,进化过程中高度保守并依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD),具有去乙酰化酶特性,主要定位于线粒体,在能量生成、代谢和抗氧化应激中发挥重要作用。研究表明,SIRT3 蛋白也可通过调控线粒体内相关的乙酰化蛋白脱乙酰基水平参与线粒体蛋白的翻译后修饰调

节,影响线粒体的能量代谢、底物氧化、炎症趋化和细胞凋亡等活动^[19],其次,SIRT3 在线粒体能量生成与代谢^[20]、氧化应激反应、细胞凋亡和细胞内信号控制功能方面发挥重要作用^[21-22]。除此,SIRT3 也是氧化物活性物质(ROS)的抑制剂,能激活许多氧化路径,在氧化应激损伤调节中起重要作用^[23-34]。在研究氧化应激调节机制过程中发现,SIRT3 能对线粒体内相关的靶蛋白脱乙酰基,通过增加活性氧自由基清除酶活性和稳定线粒体功能来抑制线粒体内 ROS 的堆积,其高表达有抗氧化应激的作用。一些体内实验也证明,SIRT3 通过依赖锰超氧化物歧化酶的机制参与多种病理过程。SIRT3 作为一种调节能量平衡的关键性保护性因子,已成为研究氧化损伤和缺血性损伤的重要靶点之一。

3.2.2 DJ-1 DJ-1 是一种在体内广泛分布、高度保守的多功能蛋白,主要以同源二聚体的形式存在于胞质,此外线粒体、胞核等部位也存在少量分布。DJ-1 广泛分布于神经元、神经胶质细胞和外周组织,尤其是脑、睾丸和肝脏。正常情况下,DJ-1 主要位于细胞质和膜间隙中^[25],只有很少存在于细胞核与线粒体中。在氧化应激刺激下,DJ-1 蛋白会向线粒体转位^[26],以保持线粒体复合物 I 活性,发挥其抗氧化作用。近年来,大量的研究已经表明,DJ-1 是一种多功能蛋白,具有多种生物学功能,如抗氧化应激、调节线粒体功能、调控自噬、基因转录调控、抗凋亡等^[27-30]。研究发现,DJ-1 蛋白表达异常可引起线粒体形态的变化^[31],在 DJ-1 基因敲除小鼠细胞中观察到断裂的线粒体,表明 DJ-1 对线粒体具有调节作用。除此,研究还发现,DJ-1 蛋白可作为活性氧清除剂,体外细胞实验证实 DJ-1 可通过自身氧化清除 H₂O₂,保护线粒体免受损害^[30]。另外,也有研究发现在氧化应激刺激下,DJ-1 与 p53 结合的数量增加,发挥抗氧化应激、阻止细胞凋亡途径的激活^[32]。

4 小结

由此可见,线粒体不仅是“动力工厂”,而且还在维持细胞内钙稳态、细胞内信号传导、细胞器之间的联系、氧自由基的生成以及介导细胞凋亡中起重要作用。大量研究证实,线粒体参与了脊髓继发性损伤的病理过程,并且在损伤后急性期就有明显变化,这提示我们在损伤未达到级联反应前给予有效的治疗的必要性。线粒体氧化损伤和诱发细胞凋亡是急性 SCI 的重要致病机制,如何对受损组织线粒体进行干预,减缓其损伤过程成为调控继发性损伤的重要转折点。因此,线粒体已成为治疗急性 SCI 的一个潜在的新靶点,但仍缺乏安全有效的干

预受损线粒体的药物和措施。

参考文献

- [1] EMAMHADI M, SOLTANI B, BABAEI P, et al. Influence of sexuality in functional recovery after spinal cord injury in rats[J]. Arch Bone Jt Surg, 2016, 4(1): 56-59.
- [2] FRANZ S, WEIDNER N, BLESCH A. Gene therapy approaches to enhancing plasticity and regeneration after spinal cord injury[J]. Exp Neurol, 2012, 235(1): 62-69.
- [3] DONG Y, MIAO L, HEI L, et al. Neuroprotective effects and impact on caspase-12 expression of tauroursodeoxycholic acid after acute spinal cord injury in rats[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(12): 15871-15878.
- [4] VAN MIDDENDORP JJ, BARBAGALLO G, SCHUETZ M, et al. Design and rationale of a prospective, observational European multicenter study on the efficacy of acute surgical decompression after traumatic spinal cord injury: the SCI-POEM study[J]. Spinal Cord, 2012, 50(9): 686-694.
- [5] 贾志强, 王岩松, 李刚等. 急性脊髓损伤后线粒体形态结构与线粒体膜电位的变化[J]. 解放军医学院学报, 2014, 35(9): 939-942.
- [6] PATEL SP, SULLIVAN PG, PANDYA JD, et al. N-acetylcysteine amide preserves mitochondrial bioenergetics and improves functional recovery following spinal trauma[J]. Exp Neurol, 2014, 257: 95-105.
- [7] FURMANSKI AL, SALDANA JI, ONO M, et al. Tissue-derived hedgehog proteins modulate Th differentiation and disease[J]. J Immunol, 2013, 190(6): 2641-2649.
- [8] De la ROCHE M, RTTER AT, ANGUS KL, et al. Hedgehog signaling controls T cell killing at the immunological synapse[J]. Science, 2013, 342(6163): 1247-1250.
- [9] BOERGERMANN JH, KOPF J, YU PB, et al. Dorsomorphin and LDN-193189 inhibit BMP-mediated Smad, p38 and Akt signalling in C2C12 cells[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42(11): 1802-1807.
- [10] VENDITTI P, DI STEFANO L, DI MEO S. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species[J]. Mitochondrion, 2013, 13(2): 71-82.
- [11] OYINBO CA. Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade[J]. Acta Neurobiol Exp(Wars), 2011, 71(2): 281-299.
- [12] 于大堂. 大鼠脊髓损伤后神经元线粒体自噬及其相关蛋白 BNIP3、NIX 的表达[D]. 重庆: 第三军医大学, 2013: 19-32.
- [13] YU D, LI M, NI B, et al. Induction of neuronal mitophagy in acute spinal cord injury in rats[J]. Neurotox Res, 2013, 24(4): 512-522.
- [14] BENARD G, MASSA F, PUENTE N, et al. Mitochondrial CB(1) receptors regulate neuronal energy metabolism[J]. Nat Neurosci, 2012, 15(4): 558-564.
- [15] HEBERT-CHATELAIN E, REGUERO L, PUENTE N, et al. Studying mitochondrial CB1 receptors: Yes we can[J]. Mol Metab, 2014, 3(4): 339.
- [16] ZHAO T, HUANG X, HAN L, et al. Central role of mitofusin 2 in autophago some-lysosome fusion in cardiomyocytes[J]. J Biol Chem, 2012, 287(28): 23615-23625.