

线粒体分裂蛋白 Drp1 与心血管疾病研究进展

高凯¹ 苏艺婉² 徐望² 李智² 谢扬¹ 侯钦²

(1. 汕头大学医学院第二附属医院急诊科, 广东 汕头 515000; 2. 汕头大学医学院第二附属医院心内科, 广东 汕头 515000)

【摘要】线粒体分裂蛋白 Drp1 是一种广泛分布于细胞质中的大型 GTPase 蛋白, 由不同位点磷酸化激活参与不同的生理过程, 维持细胞的正常功能, 调节线粒体代谢, 促进线粒体碎片化, 激活线粒体自噬, 调节线粒体外膜渗透性以及参与细胞凋亡的过程等。Drp1 这一系列重要的生物学功能也参与到急性缺血再灌注损伤、糖尿病心肌病、心肌肥大和心力衰竭等多种心血管疾病的发生发展中。研究 Drp1 与心血管疾病的关系, 或许可为治疗心血管疾病提供新的方式。现研究 Drp1 与心血管疾病的现状。

【关键词】心血管疾病; Drp1; 线粒体

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2019.08.026

Mitochondrial Fission Protein Drp1 and Cardiovascular Diseases

GAO Kai¹, SU Yiwan², XU Wang², LI Zhi², XIE Yang¹, HOU Qin²

(1. Emergency Department, The Second Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515000, Guangdong, China; 2. Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Shantou University School of Medicine, Shantou 515000, Guangdong, China)

【Abstract】Mitochondrial fission protein Drp1 is a large GTPase proteins that is widely distributed in the cytoplasm. It is activated by different phosphorylation sites involved in different physiological processes, including maintaining cell normal function, regulating mitochondrial metabolism, promoting the mitochondrial fragmentation, activating the mitochondrial autophagy, adjusting the mitochondrial outer membrane permeability, and involving in the process of cell apoptosis, etc. The series of important biological functions of Drp1, is also involved in the occurrence and development of acute ischemia/reperfusion injury, diabetic cardiomyopathy, myocardial hypertrophy, heart failure and other cardiovascular diseases. The study on the relationship between Drp1 and cardiovascular diseases may provide a new ways to treat cardiovascular diseases. Therefore, this paper will study the status quo of Drp1 and cardiovascular diseases.

【Key words】Cardiovascular disease; Drp1; Mitochondria

线粒体对人体心肌的发育和生长过程有至关重要的作用^[1], 线粒体不仅为心肌提供收缩和舒张时所需的能量, 同时还调控心肌细胞的其他生理功能, 如活性氧(ROS)、多种信号传导、Ca²⁺稳态和细胞凋亡过程的调节等。当心肌细胞线粒体进行氧化磷酸化产生能量时, 同时伴随着 ROS 的产生, 当线粒体功能失调时, ROS 水平急剧升高, 引起心肌细胞功能异常,

诱发多种心血管疾病^[2], 如心肌缺血^[3]、心肌病^[4]和心力衰竭^[5]等。线粒体动力学作为心肌线粒体调节生理功能、维持能量代谢的关键过程, 近年来关于线粒体动力学和心血管疾病关系的研究取得很多进展^[6]。而 Drp1 作为线粒体分裂关键介质如何影响线粒体和心血管疾病的生理病理发展不得而知。现就 Drp1 的功能、作用机制及其在心血管疾病中的作用做

简要综述。

1 线粒体动力学概述

线粒体动力学分为融合和分裂两个过程,一直处于不断的转换中,线粒体动力学的稳态与能量代谢、ROS、 Ca^{2+} 的稳态和细胞死亡的过程密切相关。线粒体动力学平衡遭到破坏,将引起心肌细胞内正常生理功能紊乱,导致心肌细胞损伤,甚至死亡。

1.1 线粒体融合

线粒体融合指两个不同的线粒体通过内膜和外膜在物理上合并成一个更大线粒体,使线粒体之间内容物交换成为可能,也使已损伤的线粒体能重新获得呼吸链和 DNA。线粒体外膜上的线粒体融合蛋白(Mfn1/2)和线粒体内膜上的关键动力蛋白 OPA1 是线粒体融合时的关键介质。外膜融合是由 Mitofusin 介导的,它是一种大型的 GTPase,它分为 Mfn1 和 Mfn2 两种,通过依赖 GTP 水解引起线粒体融合,也通过 Mfn1 和 Mfn2 的寡聚影响融合状态^[7]。另外线粒体内膜的融合是以 OPA1 为中心形成的,OPA1 是一个动态相关的 GTP 酶,位于线粒体内膜上,主要作用是促进线粒体内膜融合和维持线粒体嵴的形态^[8]。

1.2 线粒体分裂

线粒体分裂是将线粒体一分为二的过程。Drp1,一种与线粒体动力学相关的大型 GTPase,是介导线粒体分裂的主要蛋白,一般游离于细胞质中,当线粒体开始分裂时,Drp1 从细胞质中招募到线粒体表面,从而介导线粒体分裂^[9]。最近研究发现,线粒体的分裂并不只是由 Drp1 调控,由于 Drp1 缺乏膜结合域,所以在裂变位点上募集 Drp1 涉及很多分子,其中包括线粒体裂变因子(Mff)和线粒体动力学蛋白 49 和 51(MiD49 和 MiD51)^[10]。Mff 过表达募集 Drp1 至线粒体,引起线粒体碎片化,若缺失,无法正常碎片化,引起线粒体过度伸长^[11]。MiD49 和 MiD50 作为线粒体分裂蛋白 Drp1 的适配器,可招募 Drp1 到线粒体中来介导线粒体分裂^[12]。此外裂变蛋白 Fis1 也作为线粒体的适配蛋白参与线粒体分裂,缺乏该蛋白的动物细胞很少,甚至不会出现裂变的缺陷^[13]。

2 线粒体分裂的调控机制

Drp1 的调控主要靠两个关键丝氨酸磷酸化位点来调节 Drp1 的活性,分别是丝氨酸 616 位点(S616)和丝氨酸 637 位点(S637)。S616 的磷酸化提高 Drp1 的活性,而 S637 的磷酸化使 Drp1 的活性减弱。两个位点被不同的激酶、磷酸酶调控激活,将线粒体分裂

与细胞内的各种生理过程联系起来。Cyclin B1、周期素依赖性激酶 1 引起 S616 的激活,使 Drp1 激活从而介导线粒体分裂,也可将钙调素依赖性激酶磷酸化将分裂与细胞内钙联系起来。cAMP 依赖蛋白激酶使 S637 激活磷酸化导致 Drp1 失活;相反钙敏感蛋白磷酸酶 calcineurin 使丝氨酸 637 去磷酸化,激活 Drp1,有研究表明蛋白激酶 D 使 S637 激活磷酸化,激活 Drp1,导致线粒体碎片化的发生以及线粒体功能障碍^[14]。Drp1 活性也受到泛素连接酶膜相关环 CH 蛋白 5 和小泛素样修饰因子 1 型的翻译后调控。此外,线粒体分裂抑制剂 1(Mdivi-1)的可用性已得到提高,Mdivi-1 是一种抑制 Drp1 的 GTPase 活性的小分子,它可阻止多聚作用,抑制线粒体分裂。

3 Drp1 与心血管疾病

线粒体分裂蛋白 Drp1 与心肌缺血、心肌肥大和心力衰竭等疾病的发生发展相关性较大。在各种心血管应激下,如钙超载、胰岛素抵抗以及自由氧的产生等引起心肌细胞线粒体分裂蛋白 Drp1 增加,促进线粒体分裂增加,线粒体自噬增多,加重线粒体功能紊乱,线粒体 ATP 产量减少,细胞活力下降,甚至导致心肌细胞凋亡等。

3.1 Drp1 与心肌缺血

当心肌出现急性或慢性缺血,引起线粒体损伤后产生过量的 ROS,诱导产生更多的线粒体分裂、碎片化,触发线粒体自噬,清除损伤的线粒体,保证线粒体的正常产能,维持细胞稳态。Qi 等^[15]发现心肌缺血后,产生大量 ROS 激活周期素依赖性激酶 1 和 PKC 的同工酶 PKC δ ,促使 Drp1 在 S616 位点磷酸化,引起线粒体分裂增加并加重线粒体功能障碍,从而介导缺血再灌注产生的损伤。Sharp 等^[16]的研究则表明,当心肌缺血再灌注损伤时,引起细胞内 Ca^{2+} 超载从而激活钙调磷酸酶,使 Drp 在 S637 位点上去磷酸化,进而使 Drp1 转位到线粒体外膜上,促进线粒体的分裂、ROS 的生成、线粒体功能障碍、心肌收缩功能障碍和舒张功能不全等。另一方面,将线粒体分裂作为缺血再灌注的治疗靶点是可行的,在 2010 年的《Circulation》杂志^[17]中指出,抑制线粒体分裂可保护心脏免受缺血再灌注损伤,Drp1 的抑制剂可作为保护心脏免受损伤的治疗靶点。自此对抑制线粒体分裂保护缺血再灌注的报道层出不穷,最突出的是 Mdivi-1,通过抑制 Drp1 的 GTPase 活性阻止 Drp1 蛋白在线粒体膜上的聚集,阻止线粒体分裂。研究发现,在缺血前给予一定量的 Mdivi-1,可降

低心律失常发生率,缩小梗死面积,改善心脏线粒体功能和碎裂及减少心肌细胞凋亡等,达到定量保护心脏最高水平的目的,并在缺血再灌注损伤过程中维持左室功能^[18]。研究还发现,微小 RNA 在心肌缺血再灌注损伤中也参与 Drp1 诱导的线粒体碎片化,在缺血再灌注过程中,微小 RNA-499 表达含量的减少会使钙调磷酸酶产生活性,促进 Drp1 的去磷酸化,引起线粒体片段化的发生^[19]。以上研究表明,Drp1 引起的线粒体分裂及线粒体片段化在心肌缺血再灌注损伤中的作用应得到关注。

3.2 Drp1 与心肌肥大

研究表明,心肌肥大的发生发展伴随能量代谢的异常,而 Drp1 作为线粒体分裂蛋白,参与线粒体质量控制,与线粒体能量代谢密切相关。研究发现由钙调神经磷酸酶信号通路介导的心肌细胞肥大需 Drp1 介导的线粒体分裂^[20];Hasan 等^[21]发现 Drp1 可在盐敏感的小鼠中促进心肌的肥厚和心肌纤维化,使用 Mdivi-1 能通过抑制活性氧的产生及抑制钙调神经磷酸酶和钙调蛋白依赖性激酶 II 改善这种情况,逆转心肌肥大和纤维化;研究发现,瘦素通过钙调神经磷酸酶诱导的心肌细胞肥大与线粒体分裂增强有关,研究者利用钙调神经磷酸酶抑制剂 FK506 的作用,可防止瘦素诱导的肥大以及线粒体分裂和线粒体功能障碍^[22]。这些研究表明,Drp1 作为能量代谢异常等压力超载下引起心肌肥大的促进因子,使用 Drp1 的抑制剂可抑制 ROS 及心肌肥大通路,阻碍心肌肥大发展为心力衰竭的进程,抑制 Drp1 依赖的通路作为逆转心肌肥大的一个重要治疗策略。

3.3 Drp1 与心力衰竭

在心力衰竭的发展过程中,Drp1 的作用与线粒体自噬相关联,而线粒体自噬的作用不统一。Drp1 依赖性的线粒体自噬能清除受损的线粒体,阻止有害的效应发生,一定程度上保护心肌细胞^[23]。在 2016 年的《Circulation》杂志中研究者发现线粒体自噬在小鼠心脏中被短暂激活,在压力过载的反应中下调^[24]。Drp1 依赖性的线粒体自噬的下调在介导线粒体功能障碍和心力衰竭的发展过程中起重要作用,而 Drp1 依赖性线粒体自噬的恢复可减轻压力超负荷时心脏功能障碍。有研究表明,胰岛素样生长因子 II 型受体活化可通过细胞外调节蛋白激酶在 S616 位点上磷酸化 Drp1 而破坏线粒体,导致线粒体功能障碍、线粒体自噬过多、线粒体功能失衡和心肌细胞减少,从而介导心力

衰竭的进展^[25]。这些研究表明,线粒体分裂蛋白 Drp1 调控的线粒体自噬和线粒体质量控制在心力衰竭进展中起到关键作用,通过改善线粒体能量代谢,增加 ATP 的产生及利用,达到延缓心力衰竭的目的。在心力衰竭的发展过程中,线粒体受损,受损的线粒体将导致异常的能量代谢、氧化应激甚至细胞死亡等,使心力衰竭进一步加重,所以依赖 Drp1 调控的线粒体自噬清除受损的线粒体是有意义的。这说明 Drp1 可作为一个重要治疗靶点来延缓心力衰竭。

3.4 其他

此外,线粒体分裂蛋白 Drp1 还在多种心血管疾病中发挥重要作用,但研究不多,有研究发现在关于糖尿病心肌病中,抑制 Drp1 可在糖尿病小鼠心肌缺血再灌注损伤中起保护作用^[4]。已有研究证实 Drp1 在调节胶原分泌和心血管钙化方面的新功能,这是新的探索领域,为心血管疾病细胞纤维钙化反应修饰新疗法的潜在发展,支持线粒体动力学在调节氧化应激介导的动脉钙积累和骨丢失中的作用^[26]。

4 小结

本文描述了 Drp1 的功能,调控它的因素以及在心血管疾病中的作用。发现与 Drp1 相关的心血管疾病,如心肌肥厚、心力衰竭等都可通过 Drp1 的抑制剂 Mdivi-1 来进行调控,改善疾病的进程。但与上述发现相反的是,根据固有的线粒体质量控制机制,长期使用 Mdivi-1 治疗心肌缺血、心肌肥厚、心力衰竭和糖尿病性心肌病,可能是有害的,因当线粒体遭受应激损伤时,线粒体分裂增多,Mdivi-1 作为 Drp1 的抑制剂,会抑制线粒体的分裂,从而使受损的线粒体累积,无法正常进行线粒体自噬,损害心脏功能。因此如何使用 Mdivi-1 来控制 Drp1 介导的线粒体分裂使心脏既能延缓心肌缺血、心肌肥大等,又不会因受损线粒体累积而使功能受到损害。这将是未来改善心肌缺血、心肌肥大和心力衰竭等心脏疾病的重要治疗靶点。另外 Drp1 调控的线粒体分裂是线粒体自噬的关键过程,自噬作为双刃剑,既在维持心肌细胞结构和功能中起重要作用,然而过度自噬又可导致心肌细胞活力下降,甚至心肌细胞死亡。如何把握好且利用线粒体自噬对心肌细胞的保护作用是 Drp1 相关性的心血管疾病治疗的关键点。综上所述,Drp1 对维持心肌细胞结构和功能有极其重要的作用。目前对 Drp1 功能的研究已取得较大的进展。但因心肌细胞的结构和功能特异性使得 Drp1 与心肌细胞特异性关系不明朗,需

不断的探索,这将是研究 Drp1 与心血管疾病关系的关键点。随着研究的不断深入,Drp1 可作为心血管疾病的治疗靶点,开辟新的领域。

参考文献

- [1] Pohjoismaki JL, Goffart S. The role of mitochondria in cardiac development and protection [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 106: 345-354.
- [2] 肖丹丹, 常文光, 法鸿鸽, 等. Parkin 介导的线粒体自噬: 调控心血管疾病的新机制 [J]. *心血管病学进展*, 2019, 40(1): 131-135.
- [3] Andalib S, Divani AA, Michel TM, et al. Pandora's Box: mitochondrial defects in ischaemic heart disease and stroke [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2017, 19: e5.
- [4] Ding M, Dong Q, Liu Z, et al. Inhibition of dynamin-related protein 1 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic mice [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2017, 16(1): 19.
- [5] Murphy MP, Hartley RC. Mitochondria as a therapeutic target for common pathologies [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(12): 865-886.
- [6] Ong SB, Kalkhoran SB, Hernandez-Resendiz S, et al. Mitochondrial-shaping proteins in cardiac health and disease – the long and the short of it! [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2017, 31(1): 87-107.
- [7] Chandhok G, Lazarou M, Neumann B. Structure, function, and regulation of mitofusin-2 in health and disease [J]. *Biol Rev*, 2018, 93(2): 933-949.
- [8] Westermann B. Bioenergetic role of mitochondrial fusion and fission [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1817(10): 1833-1838.
- [9] Neumann B, Hilliard MA. Loss of MEC-17 leads to microtubule instability and axonal degeneration [J]. *Cell Rep*, 2014, 6(1): 93-103.
- [10] Osellame LD, Singh AP, Stroud DA, et al. Cooperative and independent roles of the Drp1 adaptors Mff, MiD49 and MiD51 in mitochondrial fission [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(11): 2170-2181.
- [11] Otera H, Wang C, Cleland MM, 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.
- [12] Palmer CS, Osellame LD, Laine D, et al. MiD49 and MiD51, new components of the mitochondrial fission machinery [J]. *EMBO Rep*, 2011, 12(6): 565-573.
- [13] Loson OC, Song Z, Chen H, et al. Fis1, Mff, MiD49 and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission [J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24(5): 659-667.
- [14] Jhun BS, O-Uchi J, Adaniya SM, et al. Protein kinase D activation induces mitochondrial fragmentation and dysfunction in cardiomyocytes [J]. *J Physiol*, 2018, 596(5): 827-855.
- [15] Qi X, Disatnik MH, Shen N, et al. Aberrant mitochondrial fission in neurons induced by protein kinase C δ under oxidative stress conditions in vivo [J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(2): 256-265.
- [16] Sharp WW, Fang YH, Han M, et al. Dynamin-related protein 1 (Drp1)-mediated diastolic dysfunction in myocardial ischemia-reperfusion injury: therapeutic benefits of Drp1 inhibition to reduce mitochondrial fission [J]. *FASEB J*, 2014, 28(1): 316-326.
- [17] Ong S, Subrayan S, Lim SY, et al. Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia/reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2010, 121(18): 2012-2022.
- [18] Manechote C, Palee S, Kerdphoo S, et al. Differential temporal inhibition of mitochondrial fission by Mdivi-1 exerts effective cardioprotection in cardiac ischemia/reperfusion injury [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132(15): 1669-1683.
- [19] Wang JX, Jiao JQ, Li Q, et al. miR-499 regulates mitochondrial dynamics by targeting calcineurin and dynamin-related protein-1 [J]. *Nat Med*, 2011, 17(1): 71-78.
- [20] Pennanen C, Parra V, Lopez-Crisosto C, et al. Mitochondrial fission is required for cardiomyocyte hypertrophy mediated by a Ca^{2+} -calcineurin signaling pathway [J]. *J Cell Sci*, 2014, 127(Pt 12): 2659-2671.
- [21] Hasan P, Saotome M, Ikoma T, et al. Mitochondrial fission protein, dynamin-related protein 1, contributes to the promotion of hypertensive cardiac hypertrophy and fibrosis in Dahl-salt sensitive rats [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 121: 103-106.
- [22] Jong CJ, Yeung J, Tseung E, et al. Leptin-induced cardiomyocyte hypertrophy is associated with enhanced mitochondrial fission [J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 454(1-2): 33-44.
- [23] Chaanine AH, Gordon RE, Kohlbrenner E, et al. Potential role of BNIP3 in cardiac remodeling, myocardial stiffness, and endoplasmic reticulum: mitochondrial calcium homeostasis in diastolic and systolic heart failure [J]. *Circ Heart Fail*, 2013, 6(3): 572-583.
- [24] 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.
- [25] Huang C, Lai C, Kuo C, et al. Inhibition of ERK-Drp1 signaling and mitochondria fragmentation alleviates IGF-II R-induced mitochondria dysfunction during heart failure [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 122: 58-68.
- [26] Rogers MA, Maldonado N, Hutcheson JD, et al. Dynamin-related protein 1 inhibition attenuates cardiovascular calcification in the presence of oxidative stress [J]. *Circ Res*, 2017, 121(3): 220-233.

收稿日期: 2019-03-25