

线粒体功能障碍在心血管疾病中的作用

付辉 黄鹤

(武汉大学人民医院心内科 武汉大学心血管病研究所 心血管病湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430060)

【摘要】 心血管疾病(CVD)在世界范围内分布广泛,是导致人类死亡的主要原因之一。CVD 有着复杂的病因,多种危险因素和病理机制可导致 CVD。在细胞中,代谢异常、活性氧的过量产生、能量供应不足、自噬功能障碍、内质网应激和凋亡的激活等各种异常均可导致线粒体功能障碍。最近研究表明线粒体功能障碍在 CVD 的发生和发展中起着关键作用。现强调心肌细胞内线粒体功能障碍在 CVD 中的相关作用机制,为找到疾病新的治疗靶点带来启发。

【关键词】 线粒体功能障碍;线粒体自噬;细胞凋亡;心血管疾病

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.03.022

Role of Mitochondrial Dysfunction in Cardiovascular Disease

FU Hui, HUANG He

(Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Cardiovascular Research Institute, Wuhan University, Hubei Key Laboratory of Cardiology, Wuhan 430060, Hubei, China)

【Abstract】 Cardiovascular disease (CVD) is widely distributed worldwide and is one of the leading causes of human death. CVD has many complicated etiologies, and a variety of risk factors and pathological mechanisms can lead to CVD. In cells, various abnormalities such as metabolic abnormalities, excessive production of reactive oxygen species, insufficient energy supply, autophagy dysfunction, endoplasmic reticulum stress, and activation of apoptosis can cause mitochondrial dysfunction. Recent studies have shown that mitochondrial dysfunction plays a key role in the development of CVD. This article emphasizes the mechanism of mitochondrial dysfunction in cardiomyocytes in CVD, and provides insights for finding new therapeutic targets.

【Key words】 Mitochondrial dysfunction; Mitochondrial autophagy; Apoptosis; Cardiovascular disease

心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)是全球人类死亡的主要原因^[1]。正常的线粒体功能是高能量需求组织和器官(如心脏)所必需的。线粒体对营养和氧气需求非常敏感,并对不断变化的环境进行代谢适应性变化^[2]。在 CVD 中,心肌细胞内呼吸链电子传递和三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)合成异常、氧化应激增加和线粒体结构完整性丧失,导致线粒体功能障碍^[3]。功能障碍的线粒体中电子传递链的解耦导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生增多,细胞 ATP 耗竭,引起细胞的广泛损伤和凋亡^[3]。许多研究表明通过恢复和改善心肌细胞内线粒体的功能可能是延缓 CVD 发生和发展一个重要的治疗靶点^[4]。因此,阐明线粒体在 CVD 的相关作用机制对 CVD 患者的治疗十分重要。现结合最新的相关研究重点讨论线粒体功能障碍的机制及其在不同类型的 CVD 中的作用。

1 线粒体功能障碍的机制

1.1 心肌细胞线粒体形态异常

线粒体是一个双层膜包围的半自主细胞器。线粒体大小为 0.75 ~ 8 μm 。在心肌细胞中有纤维间线粒体和肌膜下线粒体两种群体分布。纤维间线粒体呈纵向平行排列,内膜嵴呈管状;肌膜下线粒体聚集在肌膜下,内膜嵴呈板状^[5]。线粒体的形态随心肌细胞的变化而动态改变,包括病理状态下的心肌细胞变化^[6]。

线粒体融合和线粒体裂变共同作用以维持细胞内线粒体的形态和数量。如果线粒体裂变和融合平衡失调,可能导致线粒体功能受损和低效率的聚集^[7]。线粒体裂变是一个自我维护和修复的过程,通过线粒体裂变可将受损成分清除和降解。但线粒体的过度裂变和自噬也会损害细胞的代谢能力。因此,线粒体裂变和融合的平衡必不可少^[7]。控制线粒体

融合和裂变过程的分子机制受到严格控制。在哺乳动物细胞中,线粒体裂变受线粒体裂变蛋白 1、线粒体动力相关蛋白 1(dynamin-related protein 1, DRP1)、线粒体裂变因子以及线粒体动态蛋白 49 和 51 的控制^[8]。线粒体裂变被认为是发生线粒体吞噬的前体。功能障碍的线粒体可通过线粒体吞噬有效去除^[8]。与裂变相反,线粒体融合相关蛋白包括位于线粒体外膜的线粒体融合素 1/2(mitofusin 1/2, MFN1/2)和位于线粒体内膜视神经萎缩蛋白 1^[9]。MFN1 和 MFN2 是线粒体融合所必需的,缺少这两个蛋白质的细胞线粒体融合过程明显减少^[9]。

1.2 线粒体自噬失调

线粒体自噬失调是发生线粒体功能障碍的重要原因之一。线粒体自噬的机制是,在线粒体损伤的情况下,线粒体外膜蛋白激酶(PINK1)的裂解受到抑制,从而使 PINK1 在损伤的线粒体外膜上聚集,并使 MFN1/2 磷酸化而募集 Parkin 蛋白到受损的线粒体^[10]。Parkin 蛋白通过泛素连接酶 E3 介导,从胞质溶胶转移至受损的线粒体^[11]。磷酸化 MFN1 和 MFN2 与泛素连接酶 E3-Parkin 复合物相互作用,通过招募自噬溶酶体促进受损线粒体的降解^[11]。如果线粒体自噬减少,受损的线粒体在细胞内清除障碍,在心肌细胞中积累,导致严重的氧化应激,最终引起心肌细胞凋亡。如果线粒体自噬过度激活失去适当的控制,导致心肌细胞内线粒体数量减少,心肌细胞能量供应障碍^[12]。线粒体自噬失调参与了各种 CVD 的发病过程。

1.3 线粒体功能障碍促进细胞凋亡

当电子传递链活性受损、ATP 耗竭和氧化应激增加时,线粒体功能障碍可启动心肌细胞凋亡的内在机制^[13]。诱导细胞凋亡是对急性或慢性缺血和代谢应激引起的不可逆细胞损伤的一种反应。例如缺血再灌注损伤与心肌细胞凋亡死亡相关^[14],其机制是凋亡刺激的信号使 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)基因家族蛋白(Bax/Bak)聚集到线粒体上,然后凋亡蛋白 Bax/Bak 的聚集导致线粒体外膜形成孔道。通过这些孔道,线粒体内细胞色素 C 等促凋亡因子释放后与凋亡蛋白酶活化因子(APAF-1)结合以激活细胞凋亡蛋白酶 9(caspase 9)^[15]。随后的细胞凋亡蛋白酶的级联反应导致细胞凋亡的激活^[15]。此外,线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)的打开也可能导致细胞色素 C 的释放。同时 MPTP 开放会导致线粒体基质与细胞质之间的离子交换,从而导致线粒体肿胀^[16]。当线粒体肿胀使外膜压力过高而破裂后,释放出细胞色素 C。MPTP 是细胞凋亡的重要调节因素,短暂开放可使损伤细胞发生凋亡,长时间

开放会导致氧化磷酸化的崩溃和细胞坏死^[16]。

1.4 线粒体 ROS 产生过量

线粒体呼吸链是产生能量 ATP 分子的主要途径。在正常情况下,呼吸链有效地利用了超过 98% 的传递电子来合成 ATP,1% ~ 2% 的电子被释放到线粒体外产生超氧自由基,而超氧自由基又被超氧歧化酶分解^[17]。线粒体电子传递链从 ATP 产生的解耦导致 ROS 过量产生,进而导致脂质和蛋白质的氧化和广泛的细胞损伤^[17]。线粒体 ROS 产生过量是导致线粒体功能障碍的主要原因。生理状态下,线粒体可产生低水平的 ROS,在细胞对应激和危险因素的反应中参与信号转导和调节细胞凋亡。但线粒体 ROS 产生过量会破坏线粒体 DNA、脂质和蛋白质,加剧线粒体 ROS 的产生形成恶性循环,引发细胞组织一系列功能障碍,例如诱导内皮细胞功能障碍、血管炎症和动脉壁氧化低密度脂蛋白的积累等^[18]。

1.5 线粒体 ATP 产生减少

细胞 ATP 主要由线粒体通过电子传递链的氧化磷酸化机制合成,电子传递链定位于线粒体内膜^[19]。线粒体肌酸激酶参与控制呼吸链活性,调控高能量磷酸盐 ATP 的代谢。该酶有两种存在形式:活性高的八聚体和活性较低的二聚体。病理状态下的心肌细胞中,因肌酸激酶八聚体形式解离增加,两种形式之间的平衡向二聚体转移,因此线粒体 ATP 产生减少^[20]。与正常心脏相比,心力衰竭心脏的肌酸激酶受损,ATP 产生水平降低,导致心脏功能下降^[21]。

2 CVD 中的线粒体功能异常

2.1 动脉粥样硬化

线粒体功能障碍是氧化应激的关键因素,氧化应激是一种重要的促动脉粥样硬化分子机制。生理状态下,线粒体产生的低水平 ROS 在血管内皮细胞中起着重要的作用,它可触发一氧化氮的产生、调控细胞凋亡和参与细胞内信号转导等^[22]。然而,ROS 过量产生破坏了线粒体内 DNA、脂质和蛋白质,可能会进一步加剧线粒体 ROS 的产生并形成恶性循环,导致内皮功能障碍,加速动脉粥样硬化形成^[18]。在正常功能内皮细胞中,通过线粒体吞噬和线粒体融合裂变的综合作用可清除受损的线粒体,维持正常的线粒体功能。但线粒体自噬和线粒体融合裂变的平衡失调,导致功能异常的线粒体保留下来。这在动脉粥样硬化的发生和发展中起重要的作用。在动脉粥样硬化中,血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)是一个重要的促发因素,暴露于 PDGF 的血管平滑肌细胞中 MFN2 蛋白表达水平降低,线粒体裂变增加^[23]。当使用 DRP1 选择性抑制剂线粒体分裂抑制

剂 1 (Mdivi-1) 后,使 PDGF 诱导的线粒体裂变受到抑制^[24]。目前证据表明线粒体 ROS 的过量产生以及线粒体自噬和线粒体融合裂变的平衡失调,在动脉粥样硬化的内皮细胞功能障碍中起关键作用。

2.2 缺血性心脏病

在心脏缺血时,低氧状态会引起线粒体功能障碍,导致缺氧引起的心脏损伤。缺血再灌注通过诱导氧化应激和增加 Ca^{2+} 通量进入线粒体,对线粒体功能有不良影响。这将导致线粒体内膜电化学梯度的破坏和呼吸链活性的破坏^[25]。在实验缺血再灌注模型中,缺血再灌注早期发生的线粒体自噬是心脏损伤的适应性反应^[25]。过度的线粒体自噬可能产生不良后果,会导致必需的、功能齐全的细胞器和蛋白质的降解。最近的一项研究中,使用了一种特定的 DRP1 抑制剂 P110(7 个氨基酸组成的肽类物质),表明在再灌注时抑制线粒体裂变可减少大鼠心脏的心肌梗死面积并防止心肌梗死后不良的左心室重塑^[26]。

2.3 肥厚型心肌病

在肥厚型心肌病中,心肌细胞内 Ca^{2+} 与肌丝的结合增加,使线粒体内 Ca^{2+} 浓度下降,降低线粒体三羧酸循环酶的活性和还原型辅酶 I/II 的水平,从而触发氧化应激^[27]。同时,线粒体 ROS 产生过量,可导致心肌细胞离子通道和转运蛋白的激活,以及导致与心肌肥大发展相关的转录因子和 Ca^{2+} 依赖性信号通路的激活(如 Ca^{2+} /钙调蛋白依赖的蛋白激酶介导的信号通路)^[28]。心肌细胞肥大可引起线粒体 ROS 产生过量,线粒体 ROS 产生过量又会引起心肌细胞肥大,这是一个恶性循环的过程。此外,肥大心肌细胞需更多的能量,因此伴随着线粒体丰度的增加。但线粒体数量只在疾病早期有轻度增加,随着疾病进展逐渐下降^[29],这使线粒体合成 ATP 的能力降低,导致心脏收缩功能障碍出现心力衰竭^[29]。此外,在肥厚的心肌细胞中线粒体的融合裂变失调。腺病毒介导的通过下调 DRP1 的表达阻止线粒体裂变和肥大性心肌细胞对去甲肾上腺素的反应^[30]。此外,腺病毒介导下调 MFN2 的表达增加心肌细胞内线粒体裂变和使心肌细胞出现肥大的病理改变^[30]。

2.4 心律失常

大多数心律失常是由于心脏起搏细胞的自律性增强或心脏组织中跨膜电位的异常振荡[早后除极(EAD)或延迟后除极(DAD)]引起的^[31]。实验研究证实线粒体功能障碍可能是导致心律失常的重要原因,主要通过调节氧化还原和能量敏感信号通路来调节参与动作电位产生的离子处理通道和转运蛋白^[32]。线粒体被认为是心肌细胞中 ROS 产生的主要来源,可

破坏心脏中的细胞内分子并损害电生理活性^[33]。线粒体 ROS 已显示在动物模型分离的心肌细胞中诱导 EAD、DAD 和动作电位延长^[34]。在细胞水平上,ROS 诱发心律失常的主要机制是通过改变心肌细胞内 Ca^{2+} 循环的作用。有研究表明,ROS 可调节肌质网上兰尼碱受体 2 (RyR2) 的活性^[35]。ROS 介导的心律不齐也可通过作用于基因 SCN5A 编码的钠通道,导致总和晚期心脏钠电流改变^[36]。在这方面,过氧化氢已显示出增强晚期钠电流,诱导心肌细胞的动作电位延长和 EAD^[36]。此外,ROS 引起的心律失常作用可通过氧化和间接激活钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (CaMK II) 间接调节氧化还原敏感信号转导,导致许多离子通道转运蛋白的异常开放^[37]。最近的一项研究中,ROS 诱导的心肌细胞 CaMK II 激活通过增加晚期钠电流来引发 EAD^[38]。因目前对心律失常中线粒体功能障碍的研究较少,在心房颤动和心房扑动等心律失常的心肌细胞中线粒体的形态、数量的变化情况和线粒体自噬激活情况尚不清楚,关于线粒体功能障碍在心律失常中作用的进一步研究,可从这方面考虑。

3 结论

线粒体是所有组织细胞中产生能量的主要场所,线粒体中电子传递和 ATP 产生必须受到严格调控才能保证线粒体功能的正常。呼吸链的电子传递和 ATP 合成障碍被认为是线粒体功能障碍的核心,进而导致心肌细胞中出现氧化应激、凋亡和异常自噬等病理生理现象。此外,越来越多的研究表明,线粒体的裂变、融合以及线粒体自噬在维持线粒体形态和功能正常方面起到重要作用。在 CVD 中,线粒体的裂变、融合平衡以及线粒体的自噬失调是引发心肌细胞线粒体功能障碍的重要作用机制。线粒体功能障碍在 CVD 发生和发展中的作用越来越引起重视,在动脉粥样硬化、缺血性心肌病、肥厚型心肌病、心力衰竭和心律失常中,越来越多的研究证实心肌细胞中存在线粒体功能障碍。为了从改善线粒体功能障碍的方面找到防治 CVD 的新思路,需进一步深入研究线粒体功能障碍对 CVD 发生和发展的作用。

参考文献

- [1] Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, et al. Heart disease and stroke statistics—2019 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2019, 139(10): e56-e528.
- [2] Kubli DA, Gustafsson AB. Mitochondria and mitophagy: the yin and yang of cell death control [J]. *Circ Res*, 2012, 111(9): 1208-1221.
- [3] Bonora M, Wieckowski MR, Sinclair DA, et al. Targeting mitochondria for cardiovascular disorders: therapeutic potential and obstacles [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16(1): 33-55.
- [4] Brown DA, Perry JB, Allen ME, et al. Expert consensus document: mitochondrial function as a therapeutic target in heart failure [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14

- (4):238-250.
- [5] Sun N, Finkel T. Cardiac mitochondria: a surprise about size [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 82:213-215.
- [6] Hoppel CL, Tandler B, Fujioka H, et al. Dynamic organization of mitochondria in human heart and in myocardial disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41(10):1949-1956.
- [7] Twig G, Shirihai OS. The interplay between mitochondrial dynamics and mitophagy [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(10):1939-1951.
- [8] Hall AR, Hausenloy DJ. The shape of things to come: mitochondrial fusion and fission in the adult heart [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(3):391-392.
- [9] Cipolat S, Martins de BO, Dal ZB, et al. OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(45):15927-15932.
- [10] Kane LA, Lazarou M, Fogel AI, et al. PINK1 phosphorylates ubiquitin to activate Parkin E3 ubiquitin ligase activity [J]. *J Cell Biol*, 2014, 205(2):143-153.
- [11] 塔娜, 梁雨亭, 王丹, 等. PINK1/Parkin 相关线粒体自噬与心血管疾病的进展 [J]. *心血管病学进展*, 2019, 40(4):601-604.
- [12] Lazarou M, Sliter DA, Kane LA, et al. The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy [J]. *Nature*, 2015, 524(7565):309-314.
- [13] Abdelwahid E, Stulpinas A, Kalvelyte A. Effective agents targeting the mitochondria and apoptosis to protect the heart [J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(8):1153-1166.
- [14] Liu YF, Chu YY, Zhang XZ, et al. TGFβ1 protects myocardium from apoptosis and oxidative damage after ischemia reperfusion [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(7):1551-1558.
- [15] Bhuiyan MS, Fukunaga K. Activation of HtrA2, a mitochondrial serine protease mediates apoptosis; current knowledge on HtrA2 mediated myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Ther*, 2008, 26(3):224-232.
- [16] Dorn GW. Mitochondrial pruning by Nix and BNip3: an essential function for cardiac-expressed death factors [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2010, 3(4):374-383.
- [17] Penna C, Mancardi D, Rastaldo R, et al. Cardioprotection: a radical view free radicals in pre and postconditioning [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(7):781-793.
- [18] Tang X, Luo YX, Chen HZ, et al. Mitochondria, endothelial cell function, and vascular diseases [J]. *Front Physiol*, 2014, 5:175.
- [19] Mahmood M, Francis JM, Pal N, et al. Myocardial perfusion and oxygenation are impaired during stress in severe aortic stenosis and correlate with impaired energetics and subclinical left ventricular dysfunction [J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2014, 16:29.
- [20] Maslov MY, Chacko VP, Hirsch GA, et al. Reduced in vivo high-energy phosphates precede adriamycin-induced cardiac dysfunction [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 299(2):H332-H337.
- [21] Ashrafian H. Cardiac energetics in congestive heart failure [J]. *Circulation*, 2002, 105(6):e44-e45.
- [22] Angelova PR, Abramov AY. Functional role of mitochondrial reactive oxygen species in physiology [J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 100:81-85.
- [23] Watanabe T, Saotome M, Nobuhara M, et al. Roles of mitochondrial fragmentation and reactive oxygen species in mitochondrial dysfunction and myocardial insulin resistance [J]. *Exp Cell Res*, 2014, 323(2):314-325.
- [24] Salabei JK, Hill BG. Mitochondrial fission induced by platelet-derived growth factor regulates vascular smooth muscle cell bioenergetics and cell proliferation [J]. *Redox Biol*, 2013, 1:542-551.
- [25] Gustafsson AB, Gottlieb RA. Autophagy in ischemic heart disease [J]. *Circ Res*, 2009, 104(2):150-158.
- [26] Disatnik MH, Ferreira JC, Campos JC, et al. Acute inhibition of excessive mitochondrial fission after myocardial infarction prevents long-term cardiac dysfunction [J]. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2(5):e000461.
- [27] Wijnker PJM, Sequeira V, Kuster DWD, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: a vicious cycle triggered by sarcomere mutations and secondary disease hits [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 31(4):318-358.
- [28] Brown DI, Griendling KK. Regulation of signal transduction by reactive oxygen species in the cardiovascular system [J]. *Circ Res*, 2015, 116(3):531-549.
- [29] Goffart S, von Kleist-Retzow JC, Wiesner RJ. Regulation of mitochondrial proliferation in the heart: power-plant failure contributes to cardiac failure in hypertrophy [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 64(2):198-207.
- [30] Pennanen C, Parra V, López-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.
- [31] Weiss JN, Garfinkel A, Karagueuzian HS, et al. Early afterdepolarizations and cardiac arrhythmias [J]. *Heart Rhythm*, 2010, 7(12):1891-1899.
- [32] Aggarwal NT, Makielski JC. Redox control of cardiac excitability [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(4):432-468.
- [33] Karam BS, Chavez-Moreno A, Koh W, et al. Oxidative stress and inflammation as central mediators of atrial fibrillation in obesity and diabetes [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2017, 16(1):120.
- [34] Sommese L, Valverde CA, Blanco P, et al. Ryanodine receptor phosphorylation by CaMK II promotes spontaneous Ca^{2+} release events in a rodent model of early stage diabetes: the arrhythmogenic substrate [J]. *Int J Cardiol*, 2016, 202:394-406.
- [35] LaRocca TJ, Fabris F, Chen J, et al. $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger-1 protects against systolic failure in the Akitas2 model of diabetic cardiomyopathy via a CXCR4/NF-κB pathway [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 303(3):H353-H367.
- [36] Liu M, Liu H, Dudley SC Jr. Reactive oxygen species originating from mitochondria regulate the cardiac sodium channel [J]. *Circ Res*, 2010, 107(8):967-974.
- [37] Mesubi OO, Anderson ME. Atrial remodelling in atrial fibrillation: CaMK II as a nodal proarrhythmic signal [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 109(4):542-557.
- [38] Yang R, Ernst P, Song J, et al. Mitochondrial-mediated oxidative Ca^{2+} /calmodulin-dependent kinase II activation induces early afterdepolarizations in guinea pig cardiomyocytes: an in silico study [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(15):e008939.

收稿日期:2019-10-31