

# PINK1/Parkin通路在线粒体自噬氧化损伤中的作用

梁丹阳 戴汉川\*

(华中农业大学动物医学院, 动物生物化学教研室, 武汉 430070)

**摘要** 线粒体是细胞进行氧化还原反应的主要场所, 其数量、质量和功能的完整性对调节细胞内环境稳态和维持细胞正常生理功能发挥着重要作用。当机体受不利环境影响时, 体内产生活性氧类(reactive oxygen species, ROS)和活性氮类(reactive nitrogen species, RNS)的水平显著增加, 导致线粒体结构紊乱与功能障碍, 引发机体氧化损伤, 并且激活PINK1(PTEN induced putative kinase 1)/Parkin信号通路诱导的线粒体自噬, 该通路同时也参与了细胞氧化损伤过程。该文从ROS与氧化应激、PINK1/Parkin通路与线粒体自噬及氧化损伤等方面展开, 重点概述了PINK1/Parkin通路调控线粒体自噬在氧化损伤中的作用, 为抗氧化产品的研发和机体氧化损伤相关疾病的防治提供新的思路与科学依据。

**关键词** ROS; 氧化应激; PINK1/Parkin; 线粒体自噬; 氧化损伤

## The Role of PINK1/Parkin Pathway Mitophagy in Oxidative Damage

Liang Danyang, Dai Hanchuan\*

(Animal Biochemistry Teaching and Research Office of Basic Veterinary Department,  
College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract** Mitochondria is the main place of redox reaction for cells. The quantity, quality and functional integrity of mitochondria play an crucial role in regulating cellular homeostasis and maintaining physiological functions. When body is exposed to the harmful environmental conditions, the level of free radicals such as reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) increase significantly, which causing serious structure disorder and function obstacle to mitochondria, then aggravating oxidative damage of body, besides activating PINK1/Parkin pathway to induce mitochondrial autophagy. Meanwhile, this pathway also participates in the process of cellular oxidative damage. In this paper, we make a comprehensive overview from the following aspects: ROS and oxidative stress, PINK1/Parkin pathway and mitophagy, cellular mitophagy with oxidative damage and so on, especially focus on the action of PINK1/Parkin pathway regulating mitophagy in oxidative damage. These theories will be expected to provide a new study idea and scientific basis for researching and developing the antioxidant product, as well as researching how to alleviate and prevent oxidative damage related diseases.

**Keywords** ROS; oxidative stress; PINK1/Parkin; mitophagy; oxidative damage

线粒体是动物机体进行氧化还原代谢的主要场所, 其数量、质量及功能完整性对维护细胞的内环境稳态和生理功能的有序运行发挥着重要作用。

生物体内的氧化与抗氧化系统在正常生理条件下能够自我修复至相对平衡状态。当机体处于氧化应激状态时, 线粒体的形态结构及功能紊乱, 引发细胞

收稿日期: 2017-08-16 接受日期: 2017-09-30

“十三五”国家重点研发计划项目(批准号: 2016YFD0501210、2017YFD0502301)和中央高校基本科研基金专项(批准号: 2011QC004)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 027-87280408, E-mail: daihch@126.com

Received: August 16, 2017 Accepted: September 30, 2017

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2016YFD0501210, 2017YFD0502301) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.2011QC004)

\*Corresponding author. Tel: +86-27-87280408, E-mail: daihch@126.com

网络出版时间: 2018-01-03 17:23:40

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180103.1723.020.html>

组织等氧化损伤,是动物和人类多种器官系统综合性疾病的重要诱因之一。目前氧化应激的损伤机理和防治备受关注,研究显示,氧化应激产物活性氧类(reactive oxygen species, ROS)可通过激活PINK1/Parkin通路诱导线粒体发生自噬,清除受损及多余线粒体,对维护线粒体健康的运行系统及防治氧化损伤相关疾病起到关键调控作用。本文结合最新研究进展,从ROS与氧化应激、PINK1/Parkin通路在线粒体自噬及氧化损伤等方面展开,重点阐述了PINK1/Parkin通路通过调控线粒体自噬在神经系统、肿瘤发生发展、糖尿病及其并发症、心脑血管、感染性疾病等氧化损伤疾病中发挥的作用,以期对机体氧化损伤的修复、相关疾病的防治以及抗氧化产品的研发提供新的思路与科学依据。

## 1 ROS与氧化应激

ROS是一类高活性且种类繁多的含氧小分子总称,包括超氧离子( $O_2^-$ )、过氧化物( $H_2O_2$ )和含氧自由基( $HO_2\cdot$ 、 $\cdot OH$ 、 $\cdot RO$ )等,主要由线粒体内膜呼吸链的氧化磷酸化产生。正常生理状态下,机体内产生的适量ROS可作为信号分子参与细胞生长发育、代谢调控、繁殖、免疫等生物学过程<sup>[1]</sup>。当机体遭受内外环境中的不利刺激时,如长时间高强度运动、空气中烟雾污染物、缺氧/复氧损伤、衰老、病原体侵袭、慢性代谢性疾病等均促使线粒体产生的活性氧类(ROS)和活性氮类(RNS)水平增加,破坏抗氧化防御系统,导致细胞结构和功能紊乱,引发机体氧化应激损伤<sup>[2-5]</sup>。过度累积的ROS又会将线粒体作为首要靶标进一步加重氧化损伤。研究表明,用 $300\ \mu\text{mol/L}$   $H_2O_2$ 处理IPEC-1细胞12 h后检测到ROS含量增加、线粒体膜电位( $\Delta\Psi$ )下降、抗氧化血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, *HO-1*)基因表达量增加、细胞活性显著降低,并出现大量凋亡和坏死等氧化应激损伤现象<sup>[5]</sup>。毒性氧化钆(gadolinium oxide,  $Gd_2O_3$ )米粒子可以时间和剂量依赖方式促进人神经SH-SY5Y细胞产生ROS,导致线粒体中染色体浓缩且膜电位机能紊乱<sup>[6]</sup>。用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激RAW264.7细胞15 h后,荧光探针检测出细胞内ROS水平呈9倍增加,并出现DNA损伤、氨基酸氧化反应被破坏、凋亡等细胞毒性反应<sup>[7]</sup>。Asmaa等<sup>[8]</sup>发现,在由利什曼氏原虫寄生引发的皮肤利什曼病(cutaneous leishmaniasis, CL)患者体内,多形核中性

粒细胞(polymorphonuclearleukocyte, PML)和单核巨噬细胞中ROS过度产生、丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平增加,细胞脂质过氧化损伤进程加速且功能受阻。

氧化应激导致细胞功能损伤、机体代谢紊乱、免疫机能降低,不仅可诱发人体神经、免疫、心脑血管等多种系统疾病,还会危害动物生长发育、产奶、繁殖和抗病等性能,为畜牧业造成巨大经济损失<sup>[9]</sup>。在动物生产中,早期断奶诱发仔猪产生过量的ROS,阻滞细胞周期、抑制细胞增殖、增加凋亡率,是诱发“仔猪断奶应激综合征”的重要原因之一<sup>[10]</sup>。氧化应激使怀孕母猪在妊娠期和哺乳期时产奶及繁殖性能下降,同时也是诱导奶牛在泌乳阶段特别是围产期中易感乳房炎的根本原因,严重影响养殖业生产效益。由于过度累积的ROS对线粒体渗透性转变(mitochondria permeability transition, MPT)、呼吸链功能、线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)完整性、内外膜以及对基质蛋白和相关酶类合成均可造成干扰,导致线粒体结构及功能异常,启动细胞内一系列氧化损伤反应,并且受损的线粒体又更易于产生ROS造成恶性循环。因此,降低线粒体ROS水平、及时清除受损线粒体、减轻氧化应激损伤对维护整个细胞功能的正常运行意义重大。

## 2 氧化应激与线粒体自噬

动物机体内细胞采用多种质量控制途径维持健康的线粒体运行系统,其中自噬是真核细胞以胞质空泡化为特征的溶酶体依赖性降解途径,是一种进化上高度保守的物质周转机制<sup>[11]</sup>。通常有巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬三种类型,巨自噬是目前研究最广泛最具特征的自噬过程。当辐射、饥饿、缺氧、应激、病原微生物侵袭等多种因素诱导自噬启动发生后,细胞内双层或多层膜结构形成吞噬囊泡包裹受损、变性、衰老和多余的细胞器、变性蛋白、核酸等物质在一系列自噬蛋白的作用下形成自噬体,再通过酸化与溶酶体融合形成自噬溶酶体,最终被各种溶解酶降解。细胞自噬参与体内多种代谢调节,为细胞发育、分化、再生和修复提供能量和原料,在维持内环境稳态以及调节机体衰老、神经退行性疾病、心血管疾病、自身免疫系统清除病原菌等病理生理过程中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。

细胞内自噬的发生并不是无序无目的的,而是

有选择性地作用于需要被调控和降解的细胞器或底物,线粒体自噬便是作用于线粒体的选择性自噬过程。当机体处于氧化应激状态时,细胞内过量累积的ROS不仅启动氧化损伤反应,同时也激活线粒体自噬发生。线粒体自噬可通过调控线粒体的分裂和融合清除整个损坏或多余线粒体、促进线粒体更新以及限制ROS过量累积,对线粒体质量控制与防止细胞潜在的氧化损伤具有重要作用<sup>[13]</sup>。近年来,大量研究报道了氧化应激及线粒体自噬在维护机体稳态中的互作联系,实验发现,大鼠百草枯(paraquat, PQ)中毒导致肺组织出现线粒体膜电位下降、ROS浓度增加, PINK1和Parkin蛋白水平升高,表明氧化应激诱发了线粒体自噬<sup>[14]</sup>。白藜芦醇通过激活SIRT3/AMPK信号转导途径进一步增强线粒体自噬水平,从而缓解RAW264.7细胞受氧化应激诱导的细胞毒性影响<sup>[15]</sup>。用雷帕霉素激活线粒体自噬后可修复氧化应激诱导的衰老细胞中溶酶体和线粒体功能障碍,明显延缓细胞衰老<sup>[16]</sup>。总之,机体遭受氧化应激可促使线粒体自噬程度增强,而线粒体自噬又可通过适当途径调节抗氧化水平,在一定程度上修复氧化损伤,对细胞内稳态起到相应的保护作用。

### 3 PINK1/Parkin通路参与调控线粒体自噬的作用机制

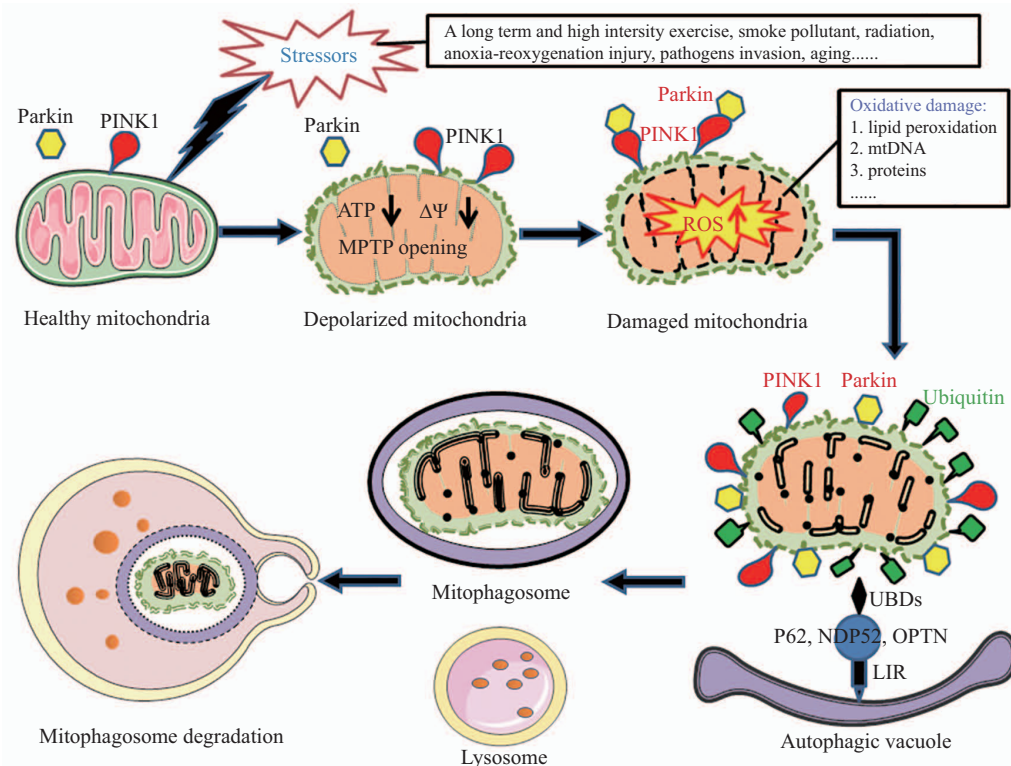
在哺乳动物体内,已发现多种信号分子通路参与线粒体自噬,其中,以PINK1/Parkin通路调控的线粒体自噬最为经典。PINK1是一个具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性的线粒体外膜蛋白,能够作为受损线粒体的分子感受器; Parkin是由*PARK2*基因编码的具有E3泛素-蛋白连接酶活性的蛋白,主要介导底物泛素化,调节蛋白降解和信号转导等。PINK1和Parkin均广泛表达于各组织和器官,尤以在神经系统、心肌、骨骼肌等高耗能器官中含量丰富,可能作为线粒体的第一道防线发挥重要作用。从最初的果蝇到近年来更多对哺乳动物细胞的实验研究明确了PINK1与Parkin位于同一条基因通路,且PINK1作用于Parkin上游,彼此之间协调控制各自表达水平,其相互作用可以促进线粒体自噬发生,引导受损线粒体以完整细胞器形式被自噬-溶酶体途径降解, PINK1和Parkin任一基因的异常表达都会明显干扰线粒体自噬的正常执行<sup>[17]</sup>。

生理状态下, PINK1进入线粒体后在内膜迅速

分裂并降解,保持在一个稳定的低水平状态。当机体氧化应激时, PINK1可迅速感应线粒体膜电位下降,研究表明, PINK1蛋白可在识别损伤线粒体时稳定聚集于外膜表面发挥生物传感器作用<sup>[18]</sup>,其激酶活性及结构完整性是诱导Parkin转位到受损线粒体继而激发线粒体自噬的首要条件。PINK1被激活后,其结构中特有的激酶域、线粒体定位区、假定跨膜域(101~107位氨基酸残基)跨越线粒体外膜而面向胞质,充分磷酸化激活并募集Parkin转位至受损线粒体外膜。Parkin通过泛素化镶嵌在外膜上的电压依赖性阴离子通道蛋白1(voltage dependent anion channel 1, VDAC1)与线粒体融合蛋白1(mitofusin 1, Mfn1)、线粒体融合蛋白2(mitofusin 2, Mfn2)<sup>[19-20]</sup>等底物,进一步调控线粒体形态及分裂融合的动态变化。此后,泛素化的线粒体在多种自噬受体调节蛋白,如核点蛋白52(nuclear dot protein, NDP52)、视神经蛋白(optineurin, OPTN)、P62/SQSTM1(sequestome 1)等含有的泛素结合结构域(ubiquitin binding domains, UBDs)和微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein light chain 3, LC3)互作结构域(LC3 interacting region, LIR)的协助下,聚集至双层自噬囊泡(autophagic vacuole),被包裹后形成线粒体自噬体(mitophagosome),进而又与溶酶体(lysosome)融合为线粒体自噬溶酶体,最终被水解酶降解<sup>[12,21]</sup>(图1)。此外, PINK1和Parkin的平衡和相对活性也将决定线粒体膜电位的重建以及电子运输酶的作用效率,以此防御线粒体自噬过度后降解健康线粒体,从而建立更为严格的质量控制机制<sup>[22-23]</sup>。

### 4 PINK1/Parkin通路调控线粒体自噬在氧化损伤相关疾病中的作用

ROS通过其感受器或效应蛋白介导PINK1/Parkin通路调控线粒体自噬,在维护细胞结构功能完整性以及机体内环境稳态中扮演关键角色。研究显示,ROS靶向JNK激酶和ERK1/2信号途径激活PINK1/Parkin通路清除农药氯吡硫磷(chlorpyrifos, CPF)暴露引起的受损线粒体<sup>[24]</sup>;黏脂蛋白1(mucolipin 1, MCOLN1)作为ROS的传感器,通过激活PINK1/Parkin通路清除损伤线粒体和过量ROS,提高转录因子TFEB(transcription factor EB)的活性,有效发挥防御自由基引起衰老和疾病作用<sup>[25]</sup>。此外, PINK1/Parkin通路调控线粒体自噬在不同氧



1: 生理状态下, PINK1和Parkin蛋白分别低水平定位于线粒体外膜和胞质中。2: 当机体受各种应激原刺激时, 线粒体去极化, ROS产生水平增加, 诱发机体氧化损伤。3: PINK1迅速识别损伤线粒体, 并大量稳定聚集于外膜表面。继而招募并充分磷酸化激活Parkin, 使其转位至受损线粒体外膜。4: Parkin构建多聚泛素链, 泛素化线粒体成分蛋白。5: 自噬受体蛋白P62、NDP52、OPTN等, 一方面通过UBDs识别泛素化的线粒体, 另一方面通过LIR锚定于自噬囊泡膜上, 形成线粒体自噬体。6: 线粒体自噬体融合溶酶体形成线粒体-自噬溶酶体, 最终于溶酶体中被水解酶降解。

1: under physiological state, the low level of PINK1 and Parkin proteins are respectively located in the mitochondrial outer membrane and cytoplasm. 2: under various of stressors stimulation, mitochondria depolarizes, ROS level in creases, which causing further oxidative damage. 3: PINK1 rapidly identifies damaged mitochondria and accumulates on the outer membrane surface. Subsequently, it recruits and fully phosphorylates Parkin to translocate to the damaged mitochondria. 4: Parkin ubiquitinates mitochondrial protein substrates. 5: autophagy receptor proteins identify ubiquitinated mitochondria by UBDs, meanwhile anchor on autophagic vacuole membranes by LIR to form mitophagosome. 6: mitophagosome and lysosome fuse to degrade damaged mitochondria.

图1 PINK1/Parkin通路调控线粒体自噬过程示意图

Fig.1 Process of the PINK1/Parkin pathway regulating mitophagy

化损伤疾病中也发挥重要作用。

#### 4.1 PINK1/Parkin调控线粒体自噬在神经系统疾病中的作用

由于神经元是高度分化的高耗能细胞, 且大脑和神经组织中兴奋性氨基酸和神经递质的代谢可源源不断的产生ROS, 因此ROS在脑部神经系统中异常活跃, 其过度累积易诱导线粒体形态结构和功能损伤从而引发线粒体自噬, 是多种神经系统疾病发生的重要因素。研究发现, 在常染色体隐性遗传病帕金森病(Parkinson's disease, PD)的病人体内, 线粒体呼吸链复合物I功能缺损, 氧化应激加重, PINK1/Parkin通路介导的线粒体自噬被激活<sup>[26]</sup>; 抑制线粒体呼吸链复合物II活性可诱导亨廷顿氏病(Huntington's disease, HD)发生; 阿尔茨

海默症(Alzheimer disease, AD)患者脑中线粒体呼吸链复合物I、II、III、IV和细胞色素C氧化酶的活性降低, 使ATP生成减少, ROS生成增多, 线粒体自噬异常<sup>[27-28]</sup>。此外, PINK1和Parkin基因突变诱导线粒体自噬异常, 导致损伤线粒体聚集引起神经轴突退化变性、神经元萎缩及死亡等, 也是引起神经系统病变的主要致病机制之一。Li等<sup>[29]</sup>研究报道, 超表达PINK1基因可显著抑制ROS及4-羟基壬烯醛(4-hydroxynonenal, 4-HNE)和二硝基苯酚(dinitrophenol, DNP)产生水平抵抗毒胡萝卜素诱导大鼠皮层神经元细胞的凋亡和氧化应激, 明确了PINK1抗氧化应激的神经保护作用。细胞内Tau蛋白的异常累积和过度磷酸化是散发性AD的标志性病理特征, 超表达野生型人类Tau(human Tau, htau)

蛋白可增加线粒体膜电位,降低线粒体中PINK1和Parkin表达水平,而上调Parkin可介导AD中突触线粒体自噬激活,减弱htau诱导自噬缺陷<sup>[30]</sup>。药物三氟拉嗪促进PINK1/Parkin下游的自噬关键转录因子TFEB发生核转位以及自噬-溶酶体靶基因的表达,可用于缓解或治疗神经退行性疾病<sup>[31]</sup>。这些研究结果表明,PINK1/Parkin调控线粒体自噬清除受损线粒体,参与对线粒体数量与质量控制、降低ROS水平、保护中枢神经系统多巴胺能神经元、维护细胞功能及内环境稳态等,这些关键保护作用可参与一系列以线粒体功能障碍、能量代谢异常为病理特征的神经系统退行性疾病。

#### 4.2 PINK1/Parkin调控线粒体自噬在肿瘤疾病中的作用

肿瘤细胞的增殖代谢与线粒体生物功能密切相关,氧化应激诱导的线粒体结构功能损伤对肿瘤的发生发展影响显著。研究表明,肿瘤细胞的增殖与迁移、血管新生、基因组不稳定性等都与细胞中ROS水平显著增加相关<sup>[32]</sup>。目前已发现异常表达的PINK1和Parkin基因在多种肿瘤和癌细胞中影响显著。研究显示,在模拟良性肝腺瘤及肝癌小鼠的肝细胞中,Parkin表达缺失导致其底物8-氧鸟嘌呤碱基量增加、有丝分裂缺陷、基因组不稳定和肿瘤发生<sup>[33]</sup>,而Parkin的高水平表达则抑制了多种癌细胞的迁移和侵袭。PINK1可通过激活胞质中PI3K/Akt/mTOR等信号通路、调控细胞周期、抑制凋亡等途径促进多种肿瘤或癌细胞生长存活<sup>[34]</sup>。超表达Parkin基因可弱化肿瘤细胞的增殖生长、促进其凋亡,明显抑制癌细胞的扩散和转移<sup>[35]</sup>。

PINK1/Parkin通路调控线粒体自噬是肿瘤细胞中一个关键的质量控制机制,对肿瘤发病的不同阶段都有着直接或间接的密切联系。早期阶段通过清除受损线粒体防止细胞应激损伤抑制肿瘤发展,后期时肿瘤细胞则会通过线粒体自噬提高自身耐受,诱导线粒体的动态变化及其结构发生显著损伤,最终演变成恶性肿瘤<sup>[36]</sup>。研究结果显示,PINK1/Parkin介导线粒体自噬调控肿瘤细胞发生发展对肿瘤及癌症的治疗起着关键推进作用<sup>[37]</sup>。Zhang等<sup>[37]</sup>发现,毛花猕猴桃中的一种三萜类化合物(a triterpenoid from actinidiaeriantha, TEAO)以时间和剂量依赖性显著降低多种癌细胞(SW620、BGC-823、HepG-2、A549、PC-3)活性,并出现胞质浓缩、形成大量空

泡等形态学变化,同时介导结肠癌细胞系SW620细胞中PINK1、Parkin、泛素、P62等蛋白活化,并以ROS依赖途径诱导PINK1/Parkin调控的线粒体自噬激活,对癌细胞发挥药物毒性作用。Yang等<sup>[38]</sup>发现,小白菊内酯可显著促进骨肉瘤癌细胞中PINK1表达上调、诱导Parkin转位至损伤线粒体,增加线粒体自噬水平,并且自噬作用的增强与ROS的过量产生密切相关,用ROS的抗氧化剂NAC处理后,可明显减弱小白菊内酯诱导的线粒体自噬标志分子LC3-II的累积,此为骨源性肉瘤的防治提供了新的药物作用机制。糖酵解抑制剂2-脱氧-D-葡萄糖可有效激活PINK1/Parkin通路,诱导线粒体自噬发生来降解神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)细胞中表达水平升高的存活素Survivin,被酶解的存活素进一步释放其结合的Beclin1,进而增加自噬水平、诱导肿瘤细胞死亡,表明糖酵解抑制剂可能是治疗NB的有效药物<sup>[39]</sup>。综上所述,深入研究ROS依赖途径诱导PINK1/Parkin调控的线粒体自噬在肿瘤细胞发生发展中的具体作用机理,对以PINK1/Parkin为靶点的新药及抗氧化产品的开发与研究具有重要的研究价值。

#### 4.3 PINK1/Parkin调控线粒体自噬在糖尿病及其并发症的作用

糖尿病及其慢性并发症涉及全身多个器官系统代谢机能障碍。目前已证实过度氧化应激诱导的氧化损伤是糖尿病及其并发症发生的主要机制之一,特别是线粒体功能紊乱干扰胰岛素的分泌和作用,是导致机体胰岛素抵抗、高血糖及2型糖尿病等代谢性疾病的首要特征,同时伴随出现高产量的ROS、低水平的ATP、mtDNA突变及线粒体自噬异常等病理现象<sup>[40]</sup>。

PINK1/Parkin通路介导线粒体分裂融合的动态变化调控线粒体自噬,在有效调控机体糖代谢、防治糖尿病及其并发症中发挥关键作用。其中,PINK1可通过抑制ROS介导的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径缓解棕榈酸酯诱导肝细胞中胰岛素抵抗,是2型糖尿病一个潜在治疗靶点<sup>[41]</sup>。超表达Parkin可通过增加线粒体自噬缓解1型糖尿病心肌缺血损伤。在研究糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)时发现,患者肾组织多种细胞中线粒体结构明显被破坏,ROS水平升高,氧化与抗氧化系统失衡,线粒体自噬被代偿性激活清除受损线粒体而发挥修复作用。Zhan等<sup>[42]</sup>在DN小鼠模型中发

现, 肾小管间质损伤和纤维化, 且细胞中*Parkin*基因表达水平下降。此后, 进一步的实验证实了*Parkin*在DN患者肾小管上皮细胞质中的表达量随着肾小管间质损伤严重程度的增加而逐渐减少, 并且发现抗氧化基因*FoxO1*能够通过激活PINK1/Parkin通路介导的线粒体自噬修复链脲佐菌素(streptozocin, STZ)诱导的1型糖尿病(type 1 diabetes, T1D)小鼠体内肾小球体积增大、基底膜增厚、系膜细胞增生及系膜区扩张等细胞损伤症状<sup>[43]</sup>。PINK1/Parkin介导线粒体自噬对线粒体质量与功能的有效调控有望成为平衡机体糖代谢、减轻糖尿病心肌损害, 研发防治糖尿病肾病及其他并发症新药物治疗靶点的有效途径之一。

#### 4.4 PINK1/Parkin调控线粒体自噬在心脑血管疾病中的作用

肥胖是引发高血压、高血脂、胆固醇过高等慢性代谢综合征的危险因素, 进一步可诱导血管内皮损伤、冠状动脉粥样硬化性心脏病、心肌梗塞、心力衰竭等多种心血管疾病及脑并发症<sup>[4,44]</sup>, 而ROS可参与调控心脑血管疾病的发生发展。研究表明, 线粒体ROS在正常生理条件下参与维护血管稳态和功能发挥, 而氧化应激中过度累积的ROS导致血管内皮细胞氧化损伤, 致使内皮功能紊乱, 同时也是导致缺血/再灌注损伤的主要原因。抗癌药物5-氟尿嘧啶通过刺激ROS过量产生对心肌细胞产生较强的氧化应激损伤效应, 诱导细胞凋亡、心肌纤维排列混乱等, 最终引发心血管并发症及心脏毒性<sup>[45]</sup>。进一步研究表明, ROS激活PINK1/Parkin介导的线粒体自噬在控制线粒体质量、维持心脏物质能量代谢等中发挥关键作用。Song等<sup>[46]</sup>在参与线粒体分裂蛋白1(dynamin related protein 1, Drp1)缺失的心脏中发现, *Parkin*基因表达水平上调、线粒体分裂中断、线粒体自噬流进程加速, 引发由线粒体的持续损耗导致的致命性心肌衰竭。小鼠高脂肪饮食后发现, 线粒体呼吸链和基质中的大量蛋白显著减少, 并伴随PINK1和*Parkin*的增加, P62和LC3-I蛋白表达降低, 表明线粒体代谢和自噬协同作用防止肥胖脂肪组织的增生肥大和白色化<sup>[47]</sup>。线粒体BH3-only亚族的促凋亡蛋白BNIP3(the Bcl-2 nineteen kilodalton interacting protein 3)可与PINK1相互作用, 促进PINK1蛋白聚集于线粒体外膜, 激活*Parkin*的募集和线粒体自噬, 可能是调控并修复线粒体过氧化损伤导致的心肌缺血和再灌

注损伤的有效途径之一。总之, PINK1/Parkin调控线粒体自噬维护心脑血管组织质量和功能稳态, 对机体发育过程中的心脏重塑, 缓解心脑血管疾病发生起到关键的保护作用<sup>[48]</sup>。

#### 4.5 PINK1/Parkin调控线粒体自噬在感染性疾病中的作用

线粒体作为机体能量代谢的关键枢纽, 其动力学变化、呼吸链蛋白表达、功能的完整性等与致病微生物感染的关系密切<sup>[49]</sup>。在研发治疗人类致病真菌新型隐球菌病的新型药物中发现, 噻唑类药物主要是通过增加氧化应激诱导隐球菌细胞内ROS的产生水平、干扰抗氧化系统来发挥抗真菌能力的<sup>[50]</sup>。PINK1/Parkin调控线粒体自噬维护线粒体质量与稳态参与了细胞抗病毒免疫应答反应, 对促进病原体的清除、提高天然免疫反应、保护免疫细胞存活等发挥重要作用。研究表明, 基因敲除*Parkin*使小鼠和果蝇更易受细菌感染, 人类对病原菌易感染性与*Parkin*基因多态性也密切相关。Zhong等<sup>[51]</sup>报道, 在自噬受体P62缺陷的巨噬细胞中出现大量损伤线粒体的累积, 而核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)信号可刺激PINK1转录, 并通过激活P62和*Parkin*介导的线粒体自噬清除受损线粒体, 限制其自身过度的促炎性活动。乙肝和丙肝病毒可利用PINK1介导的线粒体自噬促进自身繁殖和天然免疫逃逸, 相反, *Parkin*介导的线粒体自噬也可能对酒精和对乙酰氨基酚造成的肝损伤起到保护作用<sup>[52]</sup>。Bueno等<sup>[53]</sup>发现, 在特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)和老化的肺组织中, 线粒体去极化受损与PINK1低表达有关, 表明了PINK1缺失可导致线粒体肿胀、功能失调及线粒体自噬缺陷, 并促进衰老的肺组织纤维化。在对猪瘟传染病的研究中发现, 猪瘟病毒(classical swine fever virus, CFSV)感染PK-15与3D4/2细胞后, 细胞中线粒体呈现椭圆状并失去正常线粒体嵴结构, 并逐渐被双层或单层膜状结构包裹后运输至溶酶体中降解, 同时发现线粒体分裂蛋白Drp1移位和磷酸化、细胞中PINK1与*Parkin*的蛋白表达水平增加、凋亡相关蛋白caspase-3及其底物PARP的表达下调, 说明CFSV感染可通过激活PINK1/Parkin介导线粒体自噬抑制细胞凋亡, 从而促进病毒复制。随着对线粒体自噬在感染性疾病中作用机制的深入研究, PINK1/Parkin通路介导的自噬调控可能将成为提高天然免疫应答反应、抵抗病原菌侵袭

的关键作用靶点。

## 5 小结与展望

动物机体在遭受氧化应激时,体内过量产生的活性氧类ROS导致线粒体结构和功能紊乱,进一步诱发各器官系统氧化损伤反应并激活线粒体自噬。目前,PINK1/Parkin通路调控线粒体自噬的过程及分子机制已经初步明确,并且该途径在清除受损线粒体及其他细胞器,参与机体氧化损伤修复等方面取得了重要的研究成果,但仍然存在诸多问题。目前尚不清楚Parkin具体是如何泛素化功能缺陷的线粒体并将其运送至溶酶体中加以降解。PINK1与Parkin的线粒体转位对线粒体动力学、线粒体氧化磷酸化的影响有待进一步阐明,其协同调控作用与线粒体自噬的关系需进一步深入研究。PINK1/Parkin介导线粒体自噬对氧化损伤细胞器或组织结构的重构、质量和功能稳态的维持以及代谢进程的调节需进一步明确。本文中的相关研究结果可能为以PINK1/Parkin介导线粒体自噬缺陷为特征的相关氧化损伤疾病提供新的防治途径,也有望为以PINK1/Parkin为靶标开发安全有效的抗氧化产品提供新的理论依据。

### 参考文献 (References)

- 1 Wang K, Yao Y, Zhu X, Zhang K, Zhou F, Zhu L. Amyloid beta induces NLRP3 inflammasome activation in retinal pigment epithelial cells via NADPH oxidase- and mitochondria-dependent ROS production. *J Biochem Mol Toxicol* 2016; doi: 10.1002/jbt.21887.
- 2 Merry TL, Ristow M. Do antioxidant supplements interfere with skeletal muscle adaptation to exercise training? *J Physiol-London* 2016; 594(18): 5135-47.
- 3 Dyson A, Dal-Pizzol F, Sabbatini G, Lach AB, Galfo F, Dos Santos Cardoso J, *et al.* Ammonium tetrathiomolybdate following ischemia/reperfusion injury: chemistry, pharmacology, and impact of a new class of sulfide donor in preclinical injury models. *PLoS Med* 2017; 14(7): e1002310.
- 4 Niemann B, Rohrbach S, Miller MR, Newby DE, Fuster V, Kovacic JC. Oxidative stress and cardiovascular risk: obesity, diabetes, smoking, and pollution: part 3 of a 3-part series. *J Am Coll Cardiol* 2017; 70(2): 230-51.
- 5 Wang Y, Wu Y, Wang Y, Fu A, Gong L, Li W, *et al.* *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 alleviates the oxidative stress of IPEC-1 via modulating Nrf2/Keap1 signaling pathway and decreasing ROS production. *Appl Microbiol Biotechnol* 2017; 101(7): 3015-26.
- 6 Alarifi S, Ali H, Alkahtani S, Alessia MS. Regulation of apoptosis through bcl-2/bax proteins expression and DNA damage by nano-sized gadolinium oxide. *Int J Nanomed* 2017; 12: 4541-51.
- 7 Li T, Cheng X, Du M, Chen B, Mao X. Upregulation of heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory activity of casein glycomacropeptide (GMP) hydrolysates in LPS-stimulated macrophages. *Food Funct* 2017; doi: 10.1039/c7fo00481h.
- 8 Asmaa Q, Al-Shamerii S, Al-Tag M, Al-Shamerii A, Li Y, Osman BH. Parasitological and biochemical studies on cutaneous leishmaniasis in Shara'b District, Taiz, Yemen. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2017; 16(1): 47.
- 9 Cai H, Wang C. Graphical review: the redox dark side of e-cigarettes; exposure to oxidants and public health concerns. *Redox Biol* 2017; 13: 402-6.
- 10 Cai X, Zhu L, Chen X, Sheng Y, Guo Q, Bao J, *et al.* X/XO or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced IPEC-J2 cell as a new *in vitro* model for studying apoptosis in post-weaning piglets. *Cytotechnology* 2016; 68(4): 713-24.
- 11 Wirawan E, Berghe TV, Lippens S, Agostinis P, Vandenabeele P. Autophagy: for better or for worse. *Cell Res* 2012; 22(1): 43-61.
- 12 Majcher V, Goode A, James V, Layfield R. Autophagy receptor defects and ALS-FTLD. *Mol Cell Neurosci* 2015; 66(Pt A): 43-52.
- 13 Ren Y, Li Y, Yan J, Ma M, Zhou D, Xue Z, *et al.* Adiponectin modulates oxidative stress-induced mitophagy and protects C2C12 myoblasts against apoptosis. *Sci Rep* 2017; 7(1): 3209.
- 14 刘开翔, 占志朋, 谢席胜. 线粒体自噬在百草枯中毒大鼠模型肺纤维化中的作用研究. *川北医学院学报(Liu Kaixiang, Zhan Zhipeng, Xie Xisheng. Studies on the role of mitochondrial autophagy in the rat model with pulmonary fibrosis of paraquat poisoning. Journal of Chuanbei Medical College)* 2017; 32(3): 324-8.
- 15 Duan WJ, Li YF, Liu FL, Deng J, Wu YP, Yuan WL, *et al.* A SIRT3/AMPK/autophagy network orchestrates the protective effects of trans-resveratrol in stressed peritoneal macrophages and RAW 264.7 macrophages. *Free Radic Biol Med* 2016; 95: 230-42.
- 16 Tai H, Wang Z, Gong H, Han X, Zhou J, Wang X, *et al.* Autophagy impairment with lysosomal and mitochondrial dysfunction is an important characteristic of oxidative stress-induced senescence. *Autophagy* 2017; 13(1): 99-113.
- 17 Sato S, Furuya N. Induction of PINK1/Parkin-mediated mitophagy. *Methods Mol Biol* 2017; doi: 10.1007/7651-2017-7.
- 18 Bertolin G, Ferrando-Miguel R, Jacoupy M, Traver S, Grenier K, Greene AW, *et al.* The TOMM machinery is a molecular switch in PINK1 and PARK2/PARKIN-dependent mitochondrial clearance. *Autophagy* 2013; 9(11): 1801-17.
- 19 Poole AC, Thomas RE, Andrews LA, McBride HM, Whitworth AJ, Pallanck LJ. The PINK1/Parkin pathway regulates mitochondrial morphology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(5): 1638-43.
- 20 Geisler S, Holmstrom KM, Skujat D, Fiesel FC, Rothfuss OC, Kahle PJ, *et al.* PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat Cell Biol* 2010; 12(2): 119-31.
- 21 Wong YC, Holzbaur EL. Optineurin is an autophagy receptor for damaged mitochondria in parkin-mediated mitophagy that is disrupted by an ALS-linked mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(42): E4439-48.
- 22 Hasson SA, Fogel AI, Wang C, MacArthur R, Guha R, Heman-

- Ackah S, *et al.* Chemogenomic profiling of endogenous PARK2 expression using a genome-edited coincidence reporter. *ACS Chem Biol* 2015; 10(5): 1188-97.
- 23 Hertz NT, Berthet A, Sos ML, Thorn KS, Burlingame AL, Nakamura K, *et al.* A neo-substrate that amplifies catalytic activity of Parkinson's-disease-related kinase PINK1. *Cell* 2013; 154(4): 737-47.
- 24 Park JH, Ko J, Park YS, Park J, Hwang J, Koh HC. Clearance of damaged mitochondria through PINK1 stabilization by JNK and ERK MAPK signaling in Chlorpyrifos-treated neuroblastoma cells. *Mol Neurobiol* 2017; 54(3): 1844-57.
- 25 Zhang X, Cheng X, Yu L, Yang J, Calvo R, Patnaik S, *et al.* MCOLN1 is a ROS sensor in lysosomes that regulates autophagy. *Nat Commun* 2016; 7: 12109.
- 26 Pickrell AM, Youle RJ. The roles of PINK1, Parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease. *Neuron* 2015; 85(2): 257-73.
- 27 Lustbader JW, Cirilli M, Lin C, Xu HW, Takuma K, Wang N, *et al.* Aβ directly links Abeta to mitochondrial toxicity in Alzheimer's disease. *Science* 2004; 304(5669): 448-52.
- 28 Swerdlow RH. Brain aging, Alzheimer's disease, and mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812(12): 1630-39.
- 29 Li L, Hu GK. Pink1 protects cortical neurons from thapsigargin-induced oxidative stress and neuronal apoptosis. *Biosci Rep* 2015; doi: 10.1042/BSR20140104.
- 30 Hu Y, Li XC, Wang ZH, Luo Y, Zhang X, Liu XP, *et al.* Tau accumulation impairs mitophagy via increasing mitochondrial membrane potential and reducing mitochondrial Parkin. *Oncotarget* 2016; 7(14): 17356-68.
- 31 Zhang Y, Nguyen DT, Olzomer EM, Poon GP, Cole NJ, Puvanendran A, *et al.* Rescue of Pink1 deficiency by stress-dependent activation of autophagy. *Cell Chem Biol* 2017; 24(4): 471-80.
- 32 Ciccarese F, Ciminale V. Escaping death: mitochondrial redox homeostasis in cancer cells. *Front Oncol* 2017; 7: 117.
- 33 Eid N, Kondo Y. Parkin in cancer: Mitophagy-related/unrelated tasks. *World J Hepatol* 2017; 9(7): 349-51.
- 34 O'Flanagan CH, Morais VA, Wurst W, De Strooper B, O'Neill C. The Parkinson's gene PINK1 regulates cell cycle progression and promotes cancer-associated phenotypes. *Oncogene* 2015; 34(11): 1363-74.
- 35 Xu L, Lin DC, Yin D, Koeffler HP. An emerging role of PARK2 in cancer. *J Mol Med* 2014; 92(1): 31-42.
- 36 Mazure NM, Brahim-Horn MC, Pouyssegur J. Hypoxic mitochondria: accomplices in resistance. *Bull Cancer* 2011; 98(5): 40-6.
- 37 Zhang D, Gao C, Li R, Zhang L, Tian J. TEOA, a triterpenoid from *Actinidia eriantha*, induces autophagy in SW620 cells via endoplasmic reticulum stress and ROS-dependent mitophagy. *Arch Pharm Res* 2017; 40(5): 579-91.
- 38 Yang C, Yang QO, Kong QJ, Yuan W, Ou Yang YP. Parthenolide induces reactive oxygen species-mediated autophagic cell death in human osteosarcoma cells. *Cell Physiol Biochem* 2016; 40(1/2): 146-54.
- 39 Hagenbuchner J, Kiechl-Kohlendorfer U, Obexer P, Ausserlechner MJ. BIRC5/Survivin as a target for glycolysis inhibition in high-stage neuroblastoma. *Oncogene* 2016; 35(16): 2052-61.
- 40 Rovira-Llopis S, Banuls C, Diaz-Morales N, Hernandez-Mijares A, Rocha M, Victor VM. Mitochondrial dynamics in type 2 diabetes: Pathophysiological implications. *Redox Biol* 2017; 11: 637-45.
- 41 Cang X, Wang X, Liu P, Wu X, Yan J, Chen J, *et al.* PINK1 alleviates palmitate induced insulin resistance in HepG2 cells by suppressing ROS mediated MAPK pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 478(1): 431-8.
- 42 Zhan M, Usman IM, Sun L, Kanwar YS. Disruption of renal tubular mitochondrial quality control by Myo-inositol oxygenase in diabetic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26(6): 1304-21.
- 43 Li W, Du M, Wang Q, Ma X, Wu L, Guo F, *et al.* FoxO1 promotes mitophagy in the podocytes of diabetic male mice via the PINK1/Parkin pathway. *Endocrinology* 2017; doi: 10.1210/en.2016-1970.
- 44 Ghoorah K, Campbell P, Kent A, Maznyczka A, Kunadian V. Obesity and cardiovascular outcomes: a review. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2016; 5(1): 77-85.
- 45 Fu HY, Mukai M, Awata N, Sakata Y, Hori M, Minamino T. Protein quality control dysfunction in cardiovascular complications induced by anti-cancer drugs. *Cardiovasc Drugs Ther* 2017; 31(1): 109-17.
- 46 Song M, Gong G, Burelle Y, Gustafsson AB, Kitsis RN, Matkovich SJ, *et al.* Interdependence of Parkin-mediated mitophagy and mitochondrial fission in adult mouse hearts. *Circ Res* 2015; 117(4): 346-51.
- 47 Cummins TD, Holden CR, Sansbury BE, Gibb AA, Shah J, Zafar N, *et al.* Metabolic remodeling of white adipose tissue in obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2014; 307(3): E262-77.
- 48 Gong G, Song M, Csordas G, Kelly DP, Matkovich SJ, Dorn GW, 2nd. Parkin-mediated mitophagy directs perinatal cardiac metabolic maturation in mice. *Science* 2015; 350(6265): aad2459.
- 49 Faris R, Moore RA, Ward A, Sturdevant DE, Priola SA. Mitochondrial respiration is impaired during late stage hamster prion infection. *J Virol* 2017; doi: 10.1128/JVI.00524-17.
- 50 de Sa NP, de Lima CM, Lino CI, Barbeira PJS, Baltazar LM, Santos DA, *et al.* Heterocycle thiazole compounds exhibit antifungal activity through increase in the production of reactive oxygen species in *Cryptococcus neoformans/cryptococcus gattii* species complex. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; doi: 10.1128/AAC.02700-16.
- 51 Zhong Z, Umemura A, Sanchez-Lopez E, Liang S, Shalpour S, Wong J, *et al.* NF-κB restricts inflammasome activation via elimination of damaged mitochondria. *Cell* 2016; 164(5): 896-910.
- 52 Williams JA, Ding WX. Targeting Pink1-Parkin-mediated mitophagy for treating liver injury. *Pharmacol Res* 2015; 102: 264-9.
- 53 Bueno M, Lai YC, Romero Y, Brands J, St Croix CM, Kamga C, *et al.* PINK1 deficiency impairs mitochondrial homeostasis and promotes lung fibrosis. *J Clin Invest* 2015; 125(2): 521-38.