

烟碱对线粒体调节作用的研究进展

田建露 王红娟 陈欢 侯宏卫* 胡清源*

(国家烟草质量监督检验中心, 烟草生物学效应重点实验室, 郑州 450001)

摘要 烟碱是烟草中的主要成瘾性成分, 也是一种毒性物质。线粒体作为一种半自主细胞器, 在细胞的生长、分化、凋亡、能量供应与信息传递等过程中发挥重要的功能, 线粒体相关机制的失调会对细胞乃至机体产生不可逆的损害。已有研究表明, 线粒体是烟碱作用的潜在靶点, 烟碱可通过依赖或不依赖烟碱型乙酰胆碱受体的方式对线粒体进行调节, 且烟碱浓度、烟碱作用时间和作用靶细胞不同时, 对线粒体的调节作用也不同。该文聚焦烟碱对线粒体基因表达、动力学、呼吸链、氧化应激及钙稳态和单胺氧化酶活性等的影响, 从正向和负向调节作用两方面, 综述了烟碱对线粒体的调节作用及其机制, 以期为后续研究烟碱对线粒体产生的多重生物学效应的相关机制及防控策略提供思路。

关键词 烟碱; 线粒体; 动力学; 呼吸链; 活性氧

Research Progress on the Regulatory Effect of Nicotine on Mitochondria

TIAN Jianlu, WANG Hongjuan, CHEN Huan, HOU Hongwei*, HU Qingyuan*

(China National Tobacco Quality Supervision & Test Center; Key Laboratory of Tobacco Biological Effects, Zhengzhou 450001, China)

Abstract Nicotine is the principal addictive component in tobacco, but also a toxic substance. As a semi-autonomous organelle, mitochondria act significant roles in various biological functions, such as the process of cell growth, differentiation, apoptosis, energy supply and signal transduction. Mitochondria dysfunction will cause irreversible damage to cells and even the organism. Previous studies have shown that mitochondria are the potential target of nicotine. Nicotine can regulate mitochondria in a nicotinic acetylcholine receptors dependent or independent way. When the concentration gradient, exposure duration and target cells are different, the effects of nicotine on mitochondria are different. This review focuses on the effects of nicotine on mitochondrial gene expression, mitochondrial dynamics, mitochondrial respiratory chain, oxidative stress, calcium homeostasis and monoamine oxidase activity. The regulatory effects and mechanisms of nicotine on mitochondria are summarized from both positive and negative aspects; and it provides perspectives for the follow-up study of related mechanisms and control strategies of multiple biological effects of nicotine acting on mitochondria.

Keywords nicotine; mitochondria; dynamics; respiratory chain; reactive oxygen species

烟碱, 俗称尼古丁, 是烟草中的主要成瘾性成分, 本身也是一种毒性物质。慢性烟碱暴露与多种健康风险相关, 但同时烟碱也具有抗炎、抗凋亡特

性。线粒体是细胞中一种特殊的半自主细胞器, 拥有着独立的遗传系统。线粒体相关的各种生理活动, 包括线粒体基因表达、线粒体DNA拷贝数变

收稿日期: 2022-02-18

接受日期: 2022-05-05

省部级重点项目[批准号: 110202001031(JY-14)、110202101018(XX-04)]资助的课题

*通讯作者。Tel: 0371-67672727, E-mail: qsfctc@163.com; Tel: 0371-67672601, E-mail: huqy@ztri.com.cn

Received: February 18, 2022

Accepted: May 5, 2022

This work was supported by the Provincial and Ministerial Key Project [Grant No.110202001031(JY-14),110202101018(XX-04)]

* Corresponding authors. Tel: +86-371-67672727, E-mail: qsfctc@163.com; Tel: +83-371-67672601; E-mail: huqy@ztri.com.cn

化、线粒体氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)、线粒体动力学、线粒体凋亡途径、线粒体自噬等,均影响细胞和生物体的一系列生命进程。线粒体作为烟碱作用的潜在靶点,在烟碱的生物学效应中发挥重要功能。

烟碱是一种生物碱,也是烟碱型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptors, nAChRs)的高亲和力激动剂,可以通过与细胞中的nAChRs结合,调节线粒体的结构与功能^[1],还可以影响不同亚型nAChRs的生物合成过程^[2]。除与受体作用之外,烟碱作为一种两性分子,可直接穿过细胞膜进入细胞质,与线粒体或胞内其他组分直接作用,如与线粒体呼吸链复合物互作来调节线粒体的功能^[3]。因此,烟碱与线粒体作用的方式主要有两种,一种依赖于nAChRs,另一种作用方式不依赖于nAChRs。

线粒体最重要的功能是进行氧化磷酸化为细胞供能,而烟碱可以作用于呼吸链复合物,影响线粒体的供能过程。线粒体的裂变和融合,在线粒体的数量和质量控制中发挥重要作用,有助于线粒体稳态的维持和适应外界压力^[4]。线粒体DNA拷贝数的变化取决于线粒体裂变和融合事件,而烟碱可以调节线粒体动力学,上调或下调线粒体DNA拷贝数^[5]。流行病学研究显示,吸烟对多种健康风险有负面效应,但对阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)等神经退行性疾病有一定的预防或缓解作用,而这种预防或缓解作用主要依赖于烟碱^[6]。此外,烟碱还能通过作用于线粒体上的不同结构,激活线粒体自噬和线粒体介导的细胞凋亡途径等^[7-8],对线粒体的各种转运机制或生理活动产生相应的正向或负向调节效应。

总之,当暴露剂量、作用时间及作用对象不同时,烟碱可通过不同分子机制对线粒体的生理活动产生不同调节结果。本文将结合近些年来研究,以对人体产生的健康效应为依据将烟碱对线粒体的调节作用分为正负两大方面,系统总结烟碱对线粒体的调节作用及其相应机制,并讨论烟碱相关线粒体异常的生物学机制,为相关防治策略提供理论基础。

1 烟碱对线粒体的正向调节作用

1.1 烟碱上调nAChRs维持细胞活力

烟碱会促进nAChRs靶向线粒体。有研究表明,烟碱的摄入增加了肝脏中线粒体与非线粒体

nAChRs的比例,也增加了nAChRs的糖基化和在线粒体中的表达水平,nAChRs的糖基化修饰可能是将新合成的nAChRs分子定向运输到线粒体膜的信号,即烟碱可以上调不同nAChRs亚基的水平,在生物合成的过程中促进nAChRs五聚体的组装、折叠和成熟^[2]。小鼠摄入烟碱会促进肝脏中的 $\alpha 4\beta 2$ nAChRs转运到线粒体,而不影响其他nAChRs亚型^[9]。

烟碱是nAChRs的激动剂,在受到与吸烟者血液中相似水平的烟碱暴露时,短时间作用可以激活线粒体膜上的nAChRs进而维持适当的细胞活力^[2]。烟碱对线粒体的调节作用在 $\alpha 7$ nAChRs含量正常或缺失状态下是不同的。在正常神经细胞中,烟碱激活细胞中的 $\alpha 7$ nAChRs后,可抑制过氧化氢(H_2O_2)诱导的星形胶质细胞凋亡和胶质细胞源性神经营养因子的下调,还可显著抑制 H_2O_2 诱导的线粒体膜电位的下降,起保护神经元的作用^[1]。根据《免疫药理学指南》获知,烟碱可以激活 $\alpha 7$ nAChRs,但对 $\alpha 9$ nAChRs有拮抗作用。 $\alpha 7$ nAChRs缺失引起的记忆损害能通过上调脑中 $\alpha 4\beta 2$ nAChRs来补偿,这主要是通过干预刺激神经营养因子如白细胞介素6(interleukin 6, IL-6)发挥作用的,烟碱还会下调脑线粒体中的 $\alpha 9\beta 4$ nAChRs,以弥补 $\alpha 7$ nAChRs的缺失,并使线粒体对凋亡的影响更加敏感^[9]。

1.2 烟碱调节动力学维持线粒体质量

线粒体的数量依赖于其分裂与融合的平衡,以修复受损的线粒体,维持线粒体的正常功能。在对能量高度依赖的神经细胞中,线粒体尤为重要,除氧化供能外,还参与维持正常的神经元形态和突触传递等^[10]。许多疾病的发生都与线粒体动力学失调有关。

线粒体的分裂和融合依赖于几种特殊蛋白,如动力蛋白相关蛋白1(dynamin-related protein 1, DRP1)、裂变蛋白1(fission protein 1, FIS1)和线粒体融合蛋白2(mitofusin 2, Mfn2)以及辅因子如过氧化物酶体增殖物激活受体共激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor co7 activator-1 α , PGC-1 α)^[11-12]。研究表明,烟碱可以激活 $\alpha 7$ nAChRs,释放相关信号分子,并影响线粒体动力学相关的蛋白水平,例如可促进DRP1的S616位点磷酸化、诱导PGC-1 α 的表达,改变海马神经元中线粒体的形态;烟碱还会促进线粒体与微管蛋白分离,使三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP3)受体聚集来影响线粒体的裂变与融合过程^[10]。

较低浓度(5 $\mu\text{mol/L}$ 或10 $\mu\text{mol/L}$)的烟碱在介导线粒体动力学变化的过程中,不会对线粒体产生有害影响。综上所述,烟碱可通过调节线粒体的动力学挽救受损的线粒体并维持线粒体质量^[13]。

1.3 烟碱与呼吸链互作进行神经保护

早在2001年,就有人研究烟碱对大鼠脑线粒体呼吸链的影响及烟碱的作用靶点^[14]。结果发现,较低浓度范围内,烟碱对呼吸链复合物I有明显的浓度依赖性抑制作用,主要由于烟碱和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)存在竞争关系,二者均能结合呼吸链复合物I;呼吸链复合物I处会产生超氧阴离子,而烟碱能够在一定程度上抑制这种活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生,且烟碱与脑线粒体呼吸链复合物I的相互作用完全独立于nAChRs,即细胞线粒体呼吸链复合物I上有一个非常高亲和力的烟碱结合位点^[14]。在*N*-甲基-4-苯基吡啶(MPP⁺)和钙诱导的线粒体功能障碍研究中发现,烟碱可以减少呼吸链复合物I处的电子泄漏^[15],并能够抑制MPP⁺诱导的线粒体细胞色素C(cytochrome C, cyt c)的释放^[16],与流行病学调查结果一致,吸烟者罹患PD的风险比年龄和性别匹配的非吸烟者低近50%^[3],这些机制可在一定程度上解释烟碱的神经保护作用^[15]。

而后在基因层面的研究中,雌性Sprague-Dawley大鼠注射烟碱7天后,多个脑区的基因表达水平都受到烟碱的显著调控,如复合物I的两个亚基(*Mt-ND4*和*Mt-ND6*),ATP合成酶亚基(*Atp5j*)在杏仁核、海马区中表达水平升高,在纹状体中的表达水平有所下降;编码各复合物的基因在多个脑区的变化表明电子传递系统在中枢神经系统与烟碱相互作用中的重要性^[17]。上述结果表明,烟碱可上调部分脑区线粒体呼吸链相关的基因进而调节线粒体的功能,因此猜测烟碱的神经保护可能与烟碱对线粒体的调控有关。

1.4 烟碱诱导应激反应保护线粒体功能

慢性烟碱暴露引起线粒体应激反应增强,烟碱激活nAChRs影响包括线粒体应激在内的多条信号通路。编码线粒体内膜转运蛋白的基因*HSP-6*和*TIMM-23*的表达水平都随着线粒体应激反应激活而增加,长期接触烟碱会导致野生型动物中*HSP-6*和*TIMM-23*表达水平增加。PINK-1(PTEN induced putative kinase 1)是一种在线粒体应激反应中被激活

的激酶,主要涉及线粒体质量控制,烟碱可与该激酶相互作用,激活依赖于PINK-1/Parkin的通路来调节多巴胺能神经元控制通路^[18]。

烟碱的神经保护作用由PINK-1和Parkin介导, Parkin是胞内E3泛素连接酶,可介导线粒体相关蛋白的泛素化, PINK1/Parkin通路是激活线粒体自噬以移除受损线粒体的线粒体应激反应^[19-20]。线粒体应激、膜去极化和未折叠蛋白的积累激活了两个不同的过程: (1) 依赖转录因子ATFS-1上调促进线粒体修复基因的表达; *ATFS-1*的两个已知靶点是*HSP-6*和*TIMM-23*, 烟碱可上调其表达; (2) 依赖PINK1/Parkin的线粒体质量控制,通过线粒体自噬来清除受损线粒体。烟碱诱导的神经保护是这两个过程综合作用的结果^[18]。

另外,氧化应激诱导的神经元损伤是神经退行性疾病中的主导原因,较低浓度(1、2、5和10 $\mu\text{mol/L}$)的烟碱预处理通过减少小鼠海马神经元HT-22细胞内ROS的生成,进而减轻H₂O₂诱导的线粒体功能障碍;主要通过上调ERK1/2磷酸化水平,激活 $\alpha 7$ -nAChRs/ERK1/2信号通路抑制H₂O₂诱导的HT-22细胞损伤^[21]。总之,慢性烟碱暴露可通过引起线粒体应激反应清除损伤的线粒体,低浓度烟碱也可减轻线粒体障碍,即烟碱处理在某些条件下有利于维持线粒体的正常功能。

1.5 烟碱抑制MAO-B维持多巴胺水平

烟碱与其受体结合后,可激活细胞内钙离子的释放,后者又可激活下游的众多信号分子,包括蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)、细胞有丝分裂活化蛋白激酶(extracellular signal-regulated protein kinase, ERK)、钙调蛋白(calmodulin, CaM)、磷脂酰肌醇-3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)等,从而减少神经元的凋亡,对多巴胺神经元产生保护作用^[22]。

单胺氧化酶(monoamine oxidase B, MAO-B)是一种主要存在于线粒体外膜上的蛋白。烟碱可进入细胞内并到达线粒体,烟碱进入细胞前期,细胞质中的烟碱含量随给药浓度的增大有所增加,而在线粒体中,加大给药浓度或是延长给药时间,烟碱的含量基本保持稳定。这可能是由于烟碱给药半小时之内即可到达线粒体,并与线粒体外膜上的MAO-B结合,此后只有与MAO-B结合的烟碱分子留在线粒体内,多余的烟碱则进入到胞质中,而线粒体上MAO-B蛋白含量有限,因此线粒体中烟碱很容易达到饱和,且

结合后不易被细胞代谢排出胞外^[23]。

实验发现,在体外低浓度的烟碱对MAO-B有较明显的抑制作用,但当浓度继续增大(0.1 $\mu\text{mol/L}$ 及以上)时,这种抑制效果就不再增加,且超高的烟碱浓度也无法完全抑制MAO-B的活性,推测是由于烟碱与MAO-B蛋白的结合方式为可逆的,最高抑制率接近90%;这一保护机制不同于已报道研究结果,可进一步帮助认识烟碱对抗PD的机制^[23]。

2 烟碱对线粒体的负向调节作用

2.1 烟碱抑制线粒体基因表达损害器官

对载脂蛋白E基因敲除的小鼠(一种非酒精性脂肪肝病的小鼠模型)进行研究,与生理盐水组和电子烟(不含烟碱)组相比,电子烟(含2.4%烟碱)组可增加肝细胞的氧化应激水平,由于缺乏组蛋白的保护,线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)对ROS高度敏感,电子烟(含2.4%烟碱)暴露后小鼠mtDNA发生突变,这些结果为研究电子烟诱导的DNA损伤和线粒体功能障碍的机制提供思路^[24]。

大鼠烟碱处理(烟碱添加至饮用水中, $3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)后,采用基因芯片技术研究正常大鼠和烟碱处理大鼠心脏功能相关基因的表达发现,在喂食大鼠烟碱3个月后,线粒体中的ATP合成酶F1复合亚基的表达受到严重抑制,其心脏组织中ATP酶(ATP5B、ATP5A1)、乙醛脱氢酶2(ALDH2)等基因的表达受到抑制,其中ATP5B和ATP5A1的基因水平至少降低了2.5倍;基于此推测烟碱可能通过抑制线粒体三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)合成和破坏其他与ATP合成相关的生理活动来损害心脏功能^[25]。

母体烟碱暴露26周后,子代雄性大鼠棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)出现白色样脂肪细胞,线粒体结构发生异常,烟碱组的线粒体基因UCP1和AMPK-SIRT1-PGC-1 α 通路相关蛋白表达下调;体外实验中也发现,50 $\mu\text{mol/L}$ 烟碱可抑制棕色脂肪细胞线粒体基因UCP1和AMPK-SIRT1-PGC-1 α 通路的表达。母体烟碱暴露对BAT功能的损害可能是烟碱诱导雄性后代肥胖的一个潜在机制^[26]。

此外,线粒体基因表达还与线粒体DNA拷贝数相关,烟碱暴露的神经细胞模型、条件性位置偏爱大鼠模型mtDNA拷贝数均显著减少^[5],从而影响神经系统的相关功能。由此,烟碱对线粒体基因的某

些调节会损害机体的心脏功能及神经系统的功能,并可能诱导肥胖,影响机体健康。

2.2 烟碱激活nAChRs促进肿瘤发生

烟碱在肺癌中有促进肿瘤发生的作用,主要通过激活细胞膜上的烟碱型乙酰胆碱受体(cell membrane-nAChRs, Cm-nAChRs)和线粒体膜上的烟碱型乙酰胆碱受体(mitochondrion-nAChRs, mt-nAChRs),分别产生促进肿瘤细胞生长和抑制肿瘤细胞内源性凋亡的效果^[27]。

以正常人肺叶支气管上皮细胞、肺鳞状细胞癌细胞系SW900和亚硝胺转化的永生化人支气管细胞系BEP2D为模型进行实验,肺细胞癌变后其线粒体膜上表达的nAChRs亚单位蛋白形成的功能性受体数量上调^[27]。线粒体膜通透性转化孔(mitochondrial membrane channel pore, MPTP)开放可导致线粒体大量肿胀、外膜破裂、膜间组分释放等诱导细胞内源性凋亡的物质^[28]。肺细胞线粒体中形成的 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 、 $\beta 2$ 和 $\beta 4$ 亚基非共价连接到电压依赖的阴离子通道上形成不同类型的受体,烟碱与mt-nAChRs结合后可抑制MPTP的开放进而阻止肿瘤细胞的凋亡;烟碱激活mt-nAChRs主要保护肿瘤细胞免受凋亡,对肺细胞产生促肿瘤作用,肺癌细胞恶性转化过程中mt-nAChRs表达受抑制可能在肺癌细胞恶性转化过程中发挥重要作用^[27]。

吸烟也会损害线粒体nAChRs的功能。当烟碱(浓度与吸烟者血液中烟碱浓度水平相似)暴露长时间存在时,会使该受体失活,削弱其介导的胆碱能抗凋亡途径。此外,烟碱虽能影响nAChRs靶向线粒体,但会使线粒体中新形成的nAChRs的敏感性下降^[2]。

2.3 烟碱调节动力学降低线粒体质量

烟碱会改变线粒体的形状与分布。肾上腺束状带组织中,烟碱处理组束状带细胞肿胀,胞质空泡化,胞核固缩,线粒体嵴逐渐消失^[29]。大鼠卵母细胞中,通过胎盘和母乳向大鼠摄入烟碱($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)后对线粒体分析发现,细胞内线粒体的分布发生变化,且这些变化多出现在细胞外周,胚胎中线粒体的定位也有变化;在哺乳动物卵子产生和早期胚胎形成过程中,线粒体的定位、结构和活性均发生显著变化^[30]。此外,母体烟碱暴露后会导致子代中的胰岛B细胞(β 细胞)中线粒体内膜和外膜(以起泡和/或合并为标志)结构严重异常,并影响子代中 β 细胞的

结构和血糖稳定^[31]。

烟碱诱导线粒体动力学失衡从而降低线粒体质量。氧化应激诱导的线粒体过度融合(stress-induced mitochondrial hyperfusion, SIMH)被认为是暴露于有毒物质的细胞短暂存活反应,低剂量烟碱会引起干细胞的SIMH效应,但伴随细胞内氧化程度增加,会对线粒体产生不可逆的损伤,引起细胞凋亡和其他信号级联反应^[8]。在胚胎细胞中,暴露于微摩尔水平的烟碱会损害人多能胚胎癌细胞的线粒体质量,毫摩尔水平的烟碱可导致线粒体碎裂^[8,32]。以轻度和中度吸烟者的血浆烟碱浓度水平对大鼠心肌细胞进行研究,在烟碱暴露的细胞和动物模型中,烟碱暴露可能通过减弱组织蛋白酶的活性,激活ROS/p38/JNK信号通路,从而阻断线粒体的自噬,导致DRP1介导的线粒体分裂增加,最后线粒体动力学失衡^[33]。烟碱作用致使线粒体自噬过程无法进行及线粒体过度裂变最终导致细胞凋亡而产生心脏毒性^[7,33],为研究烟碱对心肌细胞线粒体动力学的影响提供了新的视角^[33]。

线粒体裂变和融合,在线粒体的形成和分布中发挥重要作用,有助于维持线粒体稳态和适应压力^[4]。过度的线粒体分裂是有害的,因为它与线粒体功能下降和ROS增加有关。线粒体动力学的平衡可能对细胞凋亡的调控至关重要,其机制还需要进一步的研究确定^[33]。

2.4 烟碱抑制呼吸链引起组织毒性

成纤维细胞的分化是伤口愈合的关键,而烟碱会抑制OXPHOS复合物III的活性并促进线粒体ROS的产生从而抑制细胞分化,烟碱与复合物III抑制剂安替霉素A作用一致,通过抑制复合物III的活性影响线粒体功能和成纤维细胞的分化^[34]。此外,成人围产期暴露烟碱使子代肺中的线粒体氧化磷酸化能力降低50%以上,并促进非磷酸化呼吸水平上升^[35]。在无内质网应激时,暴露于烟碱(1 mg/kg,与“中度”女性吸烟者或尼古丁替代疗法使用者的血清浓度相当)的子代中,其超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平降低了32%,线粒体复合蛋白(I、II、IV和V)的水平降低了26%~49%^[36]。母体烟碱暴露导致3月龄大鼠子代心脏线粒体复合物蛋白受损进而导致子代出生后线粒体功能障碍,而SOD-2仅定位于线粒体(与胞质SOD-1相比)^[31],3周龄时,大鼠子代中线粒体复合蛋白I~V没有表现出的任何变化;3月龄时,子代的线粒体蛋白复合物I、II、IV和V

的蛋白水平低于非暴露组。由此可知,较高浓度的ROS和低水平的SOD可能是导致呼吸链复合物受损的原因^[26]。

烟碱暴露在一定程度上会影响呼吸链中复合物活性及含量进而影响线粒体质量,最终会对心脏等组织产生毒性,对自身或子代的健康产生威胁。

2.5 烟碱诱导氧化应激促进细胞凋亡

烟碱处理会导致线粒体氧化系统失衡。微摩尔至毫摩尔水平的烟碱慢性暴露(48 h)可诱导肺细胞中尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶1(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 1, NOX1)依赖的氧化应激和细胞凋亡。当小鼠和人的肺上皮细胞暴露在高氧环境时,烟碱可协同促进细胞凋亡;暴露早期(1 h),烟碱介导细胞内钙流变化和蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)的激活,进而激活NOX1,而后导致细胞和线粒体发生氧化应激^[37]。线粒体中的ROS还会改变线粒体膜的通透性^[38],改变线粒体凋亡途径下游效应分子的表达水平,从而导致肺泡细胞凋亡^[37]。

烟碱会降低线粒体抗氧化系统的能力。脑线粒体中,烟碱呈剂量依赖性地降低小鼠脑线粒体的基础氧耗量,但对ADP刺激的呼吸无影响^[39]。线粒体中ROS产生的有害影响主要由各种抗氧化系统功能受损导致;细胞中对抗烟碱诱导ROS的第一道防线是由SOD提供的,烟碱处理后脑匀浆中SOD活性受到抑制,可能是由于系统产生过多的超氧阴离子和H₂O₂所致;谷胱甘肽(GSH)也是细胞中主要的抗氧化剂,可直接清除自由基^[40]。有研究表明,烟碱处理使肺线粒体GSH降低40%,使肝线粒体、微粒体以及肺微粒体的脂质过氧化物增加1.3%至1.4%^[41]。

在长期暴露于烟碱(2 mg·kg⁻¹·d⁻¹)的大鼠中,用线粒体抗氧化剂Mito-Tempo预处理可以防止脑损伤的增加,由此推测靶向线粒体氧化应激可能是烟碱产品使用者缺血性脑损伤的新治疗方法^[42],此外,钙螯合剂抑制烟碱诱导的ROS产生^[43]。由此可知,可有针对性地阻止烟碱诱导的线粒体氧化应激,为相关疾病的治疗提供思路。

2.6 烟碱破坏钙稳态导致线粒体膜损伤

线粒体的大部分功能都会受到钙离子的调节,某些条件下线粒体中的钙超载会使它们在细胞应激的早期阶段功能失调,但却不会导致细胞因线粒体自噬异常、线粒体融合障碍等而突然死亡,是因为线粒

体利用它本身的钙缓冲能力来维持多种细胞功能^[44]。

烟碱(约6.8 $\mu\text{mol/L}$)处理(与氯化钠结合)神经干细胞导致大量钙流入细胞质和线粒体,线粒体中钙过量可能会导致线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)打开,进而导致线粒体基质随着水、小分子和质子进入而膨胀,最终使得线粒体外膜破裂;整合细胞外的钙或阻断线粒体钙通道蛋白通道,可逆转烟碱暴露引起的钙内流^[8]。含有烟碱的烟草产品会诱发干细胞的短暂生存反应^[45]。同时,烟碱通过增加胞质 Ca^{2+} 水平调控线粒体膜电位,改变凋亡相关蛋白的表达诱导细胞凋亡^[8]。线粒体中钙超载或钙水平不足都会引发相关疾病发生,明确烟碱影响线粒体钙稳态的原因,可在一定程度上预防线粒体相关疾病。

3 结语与展望

如图1所示,烟碱对线粒体可产生正向或负向调节作用。低剂量(几微摩尔至几十微摩尔级)的烟碱会对某些神经细胞产生保护作用,这可能是吸烟人士较非吸烟人士患神经类疾病概率低的原因。较低浓度的烟碱作用于大脑,与神经元中线粒体中的nAChRs相互作用,减少神经元的凋亡,从而减轻记

忆损伤或神经疾病的恶化。烟碱可影响线粒体的拷贝数、分裂与融合、呼吸链、钙稳态(钙的动态流动是神经元突触传递的重要信号,还涉及内质网中的相关调控,文中未涉及)等,发挥神经保护功能;较高剂量(相当于中度或重度吸烟的人摄入的烟碱水平或更高)的烟碱摄入会对线粒体的各个方面产生损害,如使线粒体发生空泡化、动力学混乱、线粒体自噬无法正常进行、扰乱线粒体的OXPHOS、增加ROS水平、抑制抗氧化物SOD或GSH的活性等,引发线粒体相关疾病。此外,烟碱对线粒体各功能的调节也会相互影响,例如线粒体的动力学与线粒体自噬会相互影响,线粒体动力学变化在其拷贝数上也有体现等。

烟碱浓度、作用时间和作用靶点不同,其也会对线粒体产生不同的调节作用。除此之外,烟碱的给药方式、机体的特异性等因素都可能影响烟碱对线粒体调节的最终结果。目前关于烟碱对线粒体的调节作用还有许多机制尚未被明确,探究烟碱对线粒体的不同调节作用机制及影响因素,将研究结果应用到烟碱的神经保护、抑制烟碱毒性等方面将会是此领域研究的重要任务,这对相关疾病的预防及治疗也有重大意义。

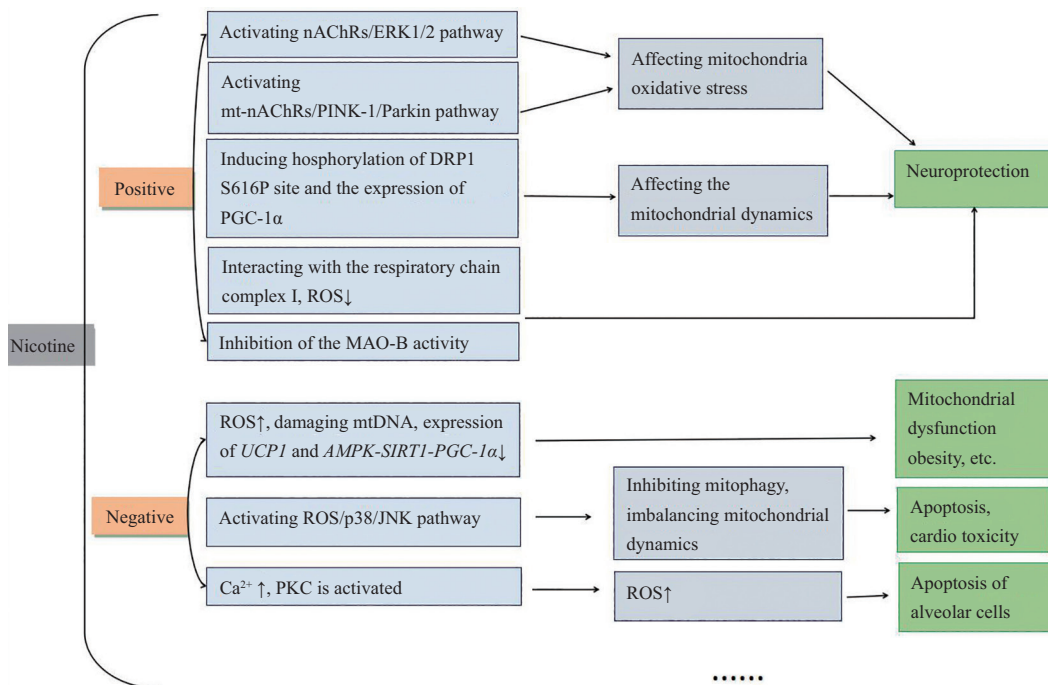


图1 烟碱对线粒体的双向调节作用

Fig.1 Bidirectional regulation of nicotine on mitochondria

参考文献 (References)

- [1] LIU Y, ZENG X, HUI Y, et al. Activation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors protects astrocytes against oxidative stress-induced apoptosis: implications for Parkinson's disease [J]. *Neuropharmacology*, 2015, 91: 87-96.
- [2] USPENSKA K, LYKHMUS O, GERGAŁOVA G, et al. Nicotine facilitates nicotinic acetylcholine receptor targeting to mitochondria but makes them less susceptible to selective ligands [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 656: 43-50.
- [3] CORMIER A, MORIN C, ZINI R, et al. Nicotine protects rat brain mitochondria against experimental injuries [J]. *Neuropharmacology*, 2003, 44(5): 642-52.
- [4] TERRIENTE-FELIX A, WILSON E L, WHITWORTH A J. *Drosophila* phosphatidylinositol-4 kinase fwd promotes mitochondrial fission and can suppress Pink1/Parkin phenotypes [J]. *PLoS genetics*, 2020, 16(10): e1008844.
- [5] WANG H, CHEN H, HAN S, et al. Decreased mitochondrial DNA copy number in nerve cells and the hippocampus during nicotine exposure is mediated by autophagy [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 226: 112831.
- [6] FRATIGLIONI L, WANG H X. Smoking and Parkinson's and Alzheimer's disease: review of the epidemiological studies [J]. *Behav Brain Res*, 2000, 113(1/2): 117-20.
- [7] JIA G, MENG Z, LIU C, et al. Nicotine induces cardiac toxicity through blocking mitophagic clearance in young adult rat [J]. *Life Sci*, 2020, 257: 118084.
- [8] ZAHEDI A, PHANDTHONG R, CHAILI A, et al. Mitochondrial stress response in neural stem cells exposed to electronic cigarettes [J]. *iScience*, 2019, 16: 250-69.
- [9] LYKHMUS O, KALASHNYK O, USPENSKA K, et al. Different effects of nicotine and N-stearoyl-ethanolamine on episodic memory and brain mitochondria of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor knockout mice [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 226.
- [10] GODOY J A, VALDIVIESO A G, INESTROSA N C. Nicotine modulates mitochondrial dynamics in hippocampal neurons [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(12): 8965-77.
- [11] LIN M Y, CHENG X T, XIE Y, et al. Removing dysfunctional mitochondria from axons independent of mitophagy under pathophysiological conditions [J]. *Autophagy*, 2017, 13(10): 1792-4.
- [12] VILLENA J A. New insights into PGC-1 coactivators: redefining their role in the regulation of mitochondrial function and beyond [J]. *FEBS J*, 2015, 282(4): 647-72.
- [13] REHKLAU K, HOFFMANN L, GURNIK C B, et al. Cofilin1-dependent actin dynamics control DRP1-mediated mitochondrial fission [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3063.
- [14] CORMIER A, MORIN C, ZINI R, et al. *In vitro* effects of nicotine on mitochondrial respiration and superoxide anion generation [J]. *Brain Res*, 2001, 900(1): 72-9.
- [15] XIE Y X, BEZARD E, ZHAO B L. Investigating the receptor-independent neuroprotective mechanisms of nicotine in mitochondria [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(37): 32405-12.
- [16] 谢渝湘, 刘强, 张杰, 等. 烟碱预防帕金森氏综合症和老年痴呆症的分子机理[J]. *中国烟草学报*(XIE Y X, LIU Q, ZHANG J, et al. The molecular mechanism of preventive effect of nicotine on Parkinson's disease and Alzheimer's disease [J]. *Acta Tabacaria Sinica*), 2006(4): 25-30.
- [17] WANG J, KIM J M, DONOVAN D M, et al. Significant modulation of mitochondrial electron transport system by nicotine in various rat brain regions [J]. *Mitochondrion*, 2009, 9(3): 186-95.
- [18] NOURSE J B JR, HARSHEFI G, MAROM A, et al. Conserved nicotine-activated neuroprotective pathways involve mitochondrial stress [J]. *iScience*, 2021, 24(3): 102140.
- [19] MOUTON-LIGER F, JACOUPEY M, CORVOL J C, et al. PINK1/Parkin-dependent mitochondrial surveillance: from pleiotropy to Parkinson's disease [J]. *Dis Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 120.
- [20] ROLLAND S G, SCHNEID S, SCHWARZ M, et al. Compromised mitochondrial protein import acts as a signal for UPR^m [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(7): 1659-69.e5.
- [21] DONG Y, BI W, ZHENG K, et al. Nicotine prevents oxidative stress-induced hippocampal neuronal injury through $\alpha 7$ -nAChR/Erk1/2 signaling pathway [J]. *Front Mol Neurosci*, 2020, 13: 557647.
- [22] CAI Y, ZHANG X, ZHOU X, et al. Nicotine suppresses the neurotoxicity by MPP⁺/MPTP through activating $\alpha 7$ nAChR/PI3K/Trx-1 and suppressing ER stress [J]. *Neurotoxicology*, 2017, 59: 49-55.
- [23] 徐家佳, 李菁菁, 李延岩, 等. 烟碱抑制单胺氧化酶B活性及其对抗帕金森病作用研究[J]. *中国烟草学报*(XU J J, LI J J, LI Y Y, et al. Inhibitory effect of nicotine on the activity of monoamine oxidase B and its application in treatment of Parkinson's disease [J]. *Acta Tabacaria Sinica*), 2021, 27(3): 88-96.
- [24] ESPINOZA-DEROUT J, SHAO X M, BANKOLE E, et al. Hepatic DNA damage induced by electronic cigarette exposure is associated with the modulation of NAD⁺/PARP1/SIRT1 axis [J]. *Front Endocrinol*, 2019, 10: 320.
- [25] HU D, CAO K, PETERSON-WAKEMAN R, et al. Altered profile of gene expression in rat hearts induced by chronic nicotine consumption [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 297(4): 729-36.
- [26] LI G L, PING J, CHEN H J, et al. Maternal nicotine exposure impairs brown adipose tissue via AMPK-SIRT1-PGC-1 α signals in male offspring [J]. *Life Sci*, 2021, 264: 118695.
- [27] CHERNYAVSKY A I, SHCHEPOTIN I B, GALITOVKIY V, et al. Mechanisms of tumor-promoting activities of nicotine in lung cancer: synergistic effects of cell membrane and mitochondrial nicotinic acetylcholine receptors [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 152.
- [28] GRIMM S, BRDICZKA D. The permeability transition pore in cell death [J]. *Apoptosis*, 2007, 12(5): 841-55.
- [29] KHALAF H A, GHONEIM F M, ARAFAT E A, et al. Histological effect of nicotine on adrenal zona fasciculata and the effect of grape seed extract with or without withdrawal of nicotine [J]. *J Microsc Ultrastruct*, 2017, 5(3): 123-31.
- [30] PACCOLA C C, SOUZA G S, FREITAS I M M, et al. Does maternal exposure to nicotine affect the oocyte quality and reproductive capacity in adult offspring [J]? *Toxicol Appl Pharmacol*, 2021, 426: 115638.
- [31] BRUIN J E, PETRE M A, RAHA S, et al. Fetal and neonatal nicotine exposure in Wistar rats causes progressive pancreatic mitochondrial damage and beta cell dysfunction [J]. *PLoS One*, 2008, 3(10): e3371.
- [32] HIRATA N, YAMADA S, ASANAGI M, et al. Nicotine induces mitochondrial fission through mitofusin degradation in human multipotent embryonic carcinoma cells [J]. *Biochem Biophys*

- Res Commun, 2016, 470(2): 300-5.
- [33] MENG T T, WANG W, MENG F L, et al. Nicotine causes mitochondrial dynamics imbalance and apoptosis through ROS mediated mitophagy impairment in cardiomyocytes [J]. Front Physiol, 2021, 12: 650055.
- [34] LEI W, LERNER C, SUNDAR I K, et al. Myofibroblast differentiation and its functional properties are inhibited by nicotine and e-cigarette via mitochondrial OXPHOS complex III [J]. Sci Rep, 2017, 7: 43213.
- [35] CANNON D T, LIU J, SAKURAI R, et al. Impaired lung mitochondrial respiration following perinatal nicotine exposure in rats [J]. Lung, 2016, 194(2): 325-8.
- [36] BARRA N G, LISYANSKY M, VANDUZER T A, et al. Maternal nicotine exposure leads to decreased cardiac protein disulfide isomerase and impaired mitochondrial function in male rat offspring [J]. J Appl Toxicol, 2017, 37(12): 1517-26.
- [37] ZANETTI F, GIACOMELLO M, DONATI Y, et al. Nicotine mediates oxidative stress and apoptosis through cross talk between NOX1 and Bcl-2 in lung epithelial cells [J]. Free Radic Biol Med, 2014, 76: 173-84.
- [38] RAMALINGAM A, MOHD FAUZI N, BUDIN S B, et al. Impact of prolonged nicotine administration on myocardial function and susceptibility to ischaemia-reperfusion injury in rats [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2021, 128(2): 322-33.
- [39] PATALAS-KRAWCZYK P, MALINSKA D, WALCZAK J, et al. Effects of plant alkaloids on mitochondrial bioenergetic parameters [J]. Food Chem Toxicol, 2021, 154: 112316.
- [40] DAS S, GAUTAM N, DEY S K, et al. Oxidative stress in the brain of nicotine-induced toxicity: protective role of andrographis paniculata Nees and vitamin E [J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2009, 34(2): 124-35.
- [41] BHAGWAT S V, VIJAYASARATHY C, RAZA H, et al. Preferential effects of nicotine and 4-(N-methyl-N-nitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone on mitochondrial glutathione S-transferase A4-4 induction and increased oxidative stress in the rat brain [J]. Biochem Pharmacol, 1998, 56(7): 831-9.
- [42] LI C, SUN H, XU G, et al. Mito-tempo prevents nicotine-induced exacerbation of ischemic brain damage [J]. J Appl Physiol, 2018, 125(1): 49-57.
- [43] PELISSIER-ROTA M A, PELOSI L, MERESSE P, et al. Nicotine-induced cellular stresses and autophagy in human cancer colon cells: a supportive effect on cell homeostasis via up-regulation of Cox-2 and PGE(2) production [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2015, 65: 239-56.
- [44] SABITA S, ULAGANATHAN M. Mitochondrial calcium in command of juggling myriads of cellular functions [J]. Mitochondrion, 2021, 57: 108-18.
- [45] BAHL V, JOHNSON K, PHANDTHONG R, et al. From the cover: thirdhand cigarette smoke causes stress-induced mitochondrial hyperfusion and alters the transcriptional profile of stem cells [J]. Toxicol Sci, 2016, 153(1): 55-69.