

高嵩,中山大学肿瘤防治中心华南恶性肿瘤防治全国重点实验室研究员,博士 生导师,实验研究部副主任。武汉大学学士,英国圣安德鲁斯大学硕士,德国马 克斯-德尔布吕克分子医学中心/柏林自由大学博士,2012年全职回国。主要研 究方向为线粒体的融合机制及其在肿瘤免疫中的意义。以通信作者在Nature、 Immunity、Sci Immunol、Nat Struct Mol Biol、Trends Cell Biol等杂志上发表多 篇论文,获授权国内外专利3项。目前担任中国晶体学会理事、中国生物物理学 会膜生物学分会和线粒体分会理事。国家重点研发计划项目负责人。获得国家 自然科学基金重点国际(地区)合作研究项目、优秀青年科学基金等资助。获广 东省青年科技创新奖。十三届广东省政协委员。

线粒体融合与肿瘤免疫

曹雨露 高嵩*

(华南恶性肿瘤防治全国重点实验室,广东省恶性肿瘤临床医学研究中心,中山大学肿瘤防治中心,广州 510060)

摘要 癌症严重威胁人类健康,对家庭和社会构成巨大负担。尽管肿瘤免疫疗法为部分晚期 癌症患者带来了治愈希望,但其对实体肿瘤的疗效有限。这一限制很大程度上归因于肿瘤微环境 对免疫细胞活力和功能的抑制。提高实体肿瘤中的免疫治疗效果已成为医学领域亟待解决的重要 临床问题。线粒体融合是决定T细胞代谢方式和活力的重要事件。该文以促进肿瘤浸润T细胞的"能 量工厂"——线粒体的融合为切入点,深入探讨了dynamin超家族蛋白MFN1/2介导的线粒体融合分 子机制,以及线粒体融合等动力学事件如何通过代谢调控促进肿瘤浸润T细胞的效能并改善T细胞 抑制性的肿瘤微环境。同时,该文还探讨了以增强T细胞线粒体功能为核心的新型免疫治疗辅助策 略的临床潜力。

关键词 线粒体融合; MFN1/2; T细胞; 肿瘤免疫

Mitochondrial Fusion and Tumor Immunity

CAO Yulu, GAO Song*

(State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China)

Abstract Cancer poses a severe threat to public health and imposes a significant burden on families and society. Though immunotherapy has offered curative potential for some patients with advanced cancer, its efficacy in solid tumors remains limited. This limitation is largely attributed to the suppressive effects of the TME (tumor microenvironment) on immune cell vitality and function. Improving the efficacy of immunotherapy for solid tumors has thus become a critical challenge in modern medical research. Mitochondrial fusion is a key event

国家自然科学基金(批准号: 82173098)资助的课题

*通信作者。Tel: 020-87343136, E-mail: gaosong@sysucc.org.cn

Received: December 6, 2024 Accepted: January 22, 2025

收稿日期: 2024-12-06 接受日期: 2025-01-22

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82173098)

^{*}Corresponding author. Tel: +86-20-87343136, E-mail: gaosong@sysucc.org.cn

of metabolic regulation and vitality of T cells. This review focuses on perception of enhancing immunotherapeutic effectiveness via promoting mitochondrial fusion. This paper reviews the molecular mechanisms of mitochondrial fusion mediated by the dynamin superfamily proteins MFN1/2, and how mitochondrial fusion and related organelle dynamics bolster the function of tumor-infiltrating T cells through metabolic regulation and reshaping the immune-suppressive TME. In addition, this review also envisaged the clinical potential for novel immunotherapeutic adjuvant strategies by enhancing T cell mitochondrial function.

Keywords mitochondrial fusion; MFN1/2; T cell; tumor immunity

线粒体的动力学平衡,对于适应细胞内外部环 境变化和维持细胞活力至关重要。线粒体融合是维 持其动力学平衡的核心事件,主要由线粒体外膜融 合蛋白MFN1(mitofusin 1)和MFN2以及内膜融合蛋 白OPA1(optic atrophy 1)共同介导。调控这些蛋白的 表达和互作网络,可以稳定线粒体网络状结构,确保 线粒体功能正常,如ATP生产、代谢调控和应激反 应等。近年来,随着肿瘤免疫学的发展,发现线粒体 动力学平衡在调节免疫细胞的代谢功能和效应能力 方面具有重要意义。T细胞是抗肿瘤免疫的核心效 应细胞,能够识别和杀伤肿瘤细胞。然而在肿瘤微 环境(tumor microenvironment, TME)中, T细胞常遭 受代谢压力和抑制性信号的负面影响,导致线粒体 功能受损和免疫耗竭。TME中的缺氧、营养匮乏、 乳酸积累等因素进一步加剧了T细胞的线粒体损伤, 削弱了其抗肿瘤能力。在此背景下,深入认识线粒 体融合机制,以及肿瘤相关T细胞的线粒体形态和代 谢稳态,将为开发克服免疫耗竭、提高抗肿瘤免疫 的新手段提供重要基础。

1 线粒体融合的机制

线粒体是存在于真核细胞内的双层膜性细胞 器,承担多种重要生物学功能,包括物质代谢、能量 生成、线粒体自噬、细胞死亡、分化和先天免疫调 节等^[1-5]。线粒体持续执行着包含融合(fusion)、分 裂(fission)、运动(movement)和发生(biogenesis)在 内的一系列动力学行为,这些行为共同决定了其高 度动态的网络状形态^[6]。动力学行为之间的协同作 用和平衡,尤其是融合和分裂的循环,对于维持线粒 体适应不同代谢需求和应激环境具有重要意义^[7-10]。 融合过程中受损线粒体可以被稀释修复,而分裂则 可隔离损伤部分,这些过程是线粒体质量控制的重 要途径之一^[11-12]。线粒体的动态平衡有助于其与内 质网、溶酶体和脂滴等细胞器之间的互作,促进细 胞器间膜组分的交换、信号分子的传递和钙稳态的 维持等,进而维持细胞稳态^[13-16]。线粒体动力学紊 乱与多种代谢类疾病、衰老、神经退行性疾病,以 及肿瘤的发生息息相关^[17-20]。近年来,通过干预线 粒体融合和分裂来恢复线粒体形态和功能,已经成 为治疗上述疾病的新方向^[21]。因此,充分认识线粒 体融合的具体机制,把握线粒体形态和功能之间的 具体关系,可以为研究相关疾病致病机制和治疗手 段提供重要基础。

1.1 线粒体融合蛋白

线粒体融合包含外膜融合和内膜融合两个连 续的步骤,均主要由dynamin超家族的成员蛋白直 接介导完成。其中,线粒体外膜融合蛋白有哺乳 动物的MFN1和MFN2, 果蝇的Fzo(fuzzy onions)和 Marf(mitochondrial assembly regulatory factor), 以 及拟南芥的FZL(fuzzy onions like)^[22-26]。线粒体 内膜融合蛋白有哺乳动物的OPA1,以及酵母的 Mgm1(mitochondrial genome maintenance 1)^[27]。 Dynamin超家族是一类区别于小G蛋白(small GT-Pases)和G蛋白的大GTP酶(large GTPase),均包含 dynamin家族保守的大GTP酶结构域(G domain)、 两个多股螺旋束,以及定位相关结构域(图1)^[28]。它 们广泛存在于各类细胞中,可以直接介导生物膜 塑形,包括囊泡与高尔基体、内体和细胞膜等生 物膜的分裂,内质网膜的融合,以及线粒体膜的融 合和分裂等^[17]。在过去的20年间, dynamin家族 蛋白的结构及其介导膜塑形的分子机制陆续被报 道,其中包括介导囊泡和细胞膜分离的dynamin蛋 白,介导内质网融合的ATL(atlastin)蛋白,介导线粒 体分裂和内外膜融合的DNM1L、Opa1/Mgm1及 MFN1/2^[29-39]。此外,还有介导细菌膜塑形的 dynamin相关蛋白 BDLP(bacterial dynamin-like protein) 和IniA(isoniazid-inducible A)^[40-43]。区别于Ras、Rab 和Rho等小GTP酶,以及G蛋白的酶活特征,即极低

的本底水解活性和依赖于GAP(GTPase-activating proteins)的快速水解活性, dynamin家族蛋白依赖自 身的寡聚化来实现 GTP 酶活性的激活。在 dynamin 超家族不同成员中,多股螺旋束是蛋白之间相互作 用的关键区域,对执行和调控膜塑形功能意义重大。 Dynamin家族的核心成员都含有两个多股螺旋束区 域,即分裂相关蛋白[如DNM、Drp1(dynamin-related protein 1)和Mx]的BSE和stalk,融合相关蛋白(如 MFN和 atlastin)的 HB1和 HB2, 细菌膜塑形关键蛋白 (如BDLP)的neck和trunk。其中靠近GTP酶结构域的 多股螺旋束,即分裂相关蛋白的BSE结构域、融合 相关蛋白的HB1区域和细菌的neck结构域,是由相 距甚远的一级序列组装而成的。总的来说, dynamin 家族蛋白在执行膜塑形功能时存在一定的共性特 征,即其功能依赖于GTP结合/水解过程中的构象和 聚合状态的改变。

如上所属,哺乳动物细胞中存在两个广泛表达的线粒体外膜融合蛋白,即MFN1和MFN2。它们均定位于线粒体外膜上,其余结构域均朝向胞质。尽管二者具有80%的序列相似性,含有相同的功能性结构域,但在生化性质和功能上仍存在一定差异。在酶活特征方面,MFN1具有更低的核苷酸亲和力,更高的GTP水解活性,说明二者可能存在差异的融合能力^[39]。具体而言,MFN1的GTP酶活性是MFN2的30倍。在细胞层面,MFN1或MFN2的缺失都会导致线粒体不同程度的片段化,其中MFN2还参与内质网和线粒体膜的交流,由此可见二者在细胞内的融合功能是不可替代的^[44]。在个体层面,MFN1

或*MFN2*敲除的小鼠死于胚胎期的不同阶段,表明 MFN1和MFN2蛋白在小鼠的胚胎发育的不同时期 发挥重要作用。在人体内,*MFN2*,而非*MFN1*的突 变是导致遗传性周围神经退行性疾病——腓骨肌萎 缩症 CMT2A(charcot-marie-tooth disease type 2A)发 生的关键因素^[45]。此外, MFN1和MFN2在介导线粒 体融合时也存在着协同作用^[46]。

1.2 线粒体外膜融合的分子机制

早在2004年,加州理工大学的CHAN课题组^[47] 首次报道了MFN1的C末端一小段区域的晶体结构, 发现该区域可以形成类似囊泡融合蛋白SNARE的 反向平行二聚体。2016年,华盛顿大学的DORN课 题组^[48]通过借鉴细菌膜塑形蛋白BDLP的结构,对全 长MFN2的结构进行了模拟计算,提出该蛋白通过在 融合支持和融合抑制状态之间的构象切换来实现膜 融合,并基于此模型解释了MFN2突变引发CMT2A 的原因。随后,中国科学院HU课题组^[49]和我们课题 组^[38]先后报道了包含GTP酶结构域和HB1的MFN1 截短体、在水解GTP不同状态下的晶体结构,揭示 了MFN1截短体的酶活特征,并首次提出了MFN1通 过发生依赖于GTP水解的二聚化介导膜栓连的分子 模型。2018年,清华大学LOU和中国科学院研究员 HU课题组^[50]共同报道了MFN1截短体在GTP水解中 间态下区别于以往构象的晶体结构,该结构进一步 补充了MFN1介导膜融合的知识,即在GTP水解的驱 动下, MFN1发生了类似细菌的 BDLP的结构域间的 构象改变。这种构象变化主要发生在GTP酶结构域 和HB1区域之间,依赖于GTP的结合和水解,即非催







图2 线粒体外膜融合的分子模型(根据参考文献[38]改编) Fig.2 Model of MFNs mediated mitochondrial outer membrane fusion (modified from reference [38])

化态/静息态时的伸展(stretched)构象和催化态时的 折叠(tethered)构象。总的来说,在无核苷酸结合时, MFN1的GTP酶结构域通过一个保守的天冬氨酸"扳 机"与其分子内的HB2结构域结合,从而被稳定在栓 连受限的构象中;当结合GTP后,天冬氨酸"扳机"打 开,GTP酶结构域从分子内的HB2区域解离,进而寻 找同侧或对侧膜上的相邻MFN1分子。此后,通过 GTP水解驱动MFN1的二聚化,水解反应同时促使 GTP酶结构域和HB1区域之间的相对位置发生变化, 将静息态下的伸展构象转变成利于膜栓连和融合的 折叠构象(图2)。

在此基础上,我们课题组还解析了MFN2截短 体在催化GTP水解过程中的多个结构,这些结构同 样包含了完整的GTP酶结构域和HB1区域^[39]。不 同于MFN1,MFN2在催化间态下显示其GTP酶结 构域之间形成了更大的接触面,这很好地解释了 MFN2"催化但不水解"的酶活特征,即表现出了更高 的底物亲和力却更低的催化活性。同时,这一特征 也决定了MFN2具有更高的栓连能力。进一步研究 发现,MFN2和MFN1之间的差别主要源于其GTP酶 结构域中单个氨基酸残基的不同,即MFN2的Thr129 与MFN1的Ile108之间的差异。MFN1和MFN2不仅 会形成同源二聚体,还会以同样依赖于GTP水解的 形式通过GTP酶结构域形成异源二聚体,这对于二 者协同调控线粒体融合至关重要。基于上述研究, 对MFN2蛋白上CMT2A疾病相关的氨基酸突变位点 进行系统分析,发现这些突变会干扰GTP水解活性, 或同源/异源二聚化,或结构域重排,进而影响其介 导膜融合的效率,导致CMT2A的发生。

2 线粒体融合与肿瘤免疫

肿瘤进展伴随着TME中多种成分之间复杂的 交互作用。在这一过程中,肿瘤通过一系列调控机 制推动代谢重编程,重塑免疫抑制性TME,从而逐步 躲避免疫监视并实现免疫逃逸,具体机制包括干扰 自然杀伤细胞(natural killer cells, NK cells)、效应T 细胞(effector T cell, Teffs)和调节性T细胞(regulatory T cell, Tregs)的活力和增殖能力, 诱导T细胞耗竭(T cell exhaustion, Tex)^[51]。近年来, 靶向增强T细胞肿 瘤识别能力和杀伤活力的免疫治疗,包括以PD-1抗 体为代表的免疫检查点抑制剂和以CAR-T细胞为代 表的细胞治疗,已成为肿瘤治疗领域的研究热点[52]。 然而, T细胞耗竭状态难以逆转, 已成为制约肿瘤免 疫治疗效果的关键瓶颈。线粒体融合是决定T细胞 代谢方式和活力的重要事件。在耗竭性T细胞中,线 粒体融合受限,直接引起线粒体形态异常,进而影响 其质量控制和生物合成,诱发线粒体功能紊乱和代 谢重编程。因此, 靶向调控线粒体融合以恢复T细胞 的活力, 逆转耗竭状态, 将成为肿瘤免疫治疗的新策 略。

2.1 线粒体代谢与肿瘤微环境

TME是肿瘤周围的复杂动态环境, 是肿瘤细

胞生长的"土壤",包括肿瘤细胞、基质组织(包括血 管、免疫细胞、成纤维细胞及信号分子)以及细胞 外基质(extracellular matrix, ECM)。肿瘤免疫微环 境是TME的核心组成部分,受到肿瘤细胞"塑造"和 "训练",帮助其实现免疫逃逸和代谢重编程,支持肿 瘤进展,并应对缺氧、营养缺乏及治疗压力等内外 部应激[53]。具体而言,肿瘤细胞可以控制肿瘤相关 抗原(tumor-associated antigens, TAAs)的表达, 增强 免疫检查点分子(如PD-L1)的表达,分泌免疫抑制 性细胞因子(如IL-10和TGF-β), 积累乳酸代谢物等, 从而改变肿瘤浸润免疫细胞的代谢状态、TAA识 别能力和肿瘤杀伤活力[51]。这些过程共同构建了 一个有利于肿瘤生长和扩散的免疫抑制性微环境。 其中,肿瘤浸润CD8⁺T淋巴细胞(tumor-infiltrating) CD8⁺ T lymphocytes, CD8⁺ TILs)是TME的重要组成 部分,在TME中发挥着肿瘤免疫监视及抗肿瘤免疫 的作用^[54-55]。CD8⁺T细胞是一群起源于胸腺的淋巴 细胞,可以识别MHC I类肿瘤抗原肽,被激活后分化 成效应T细胞和记忆T细胞(memory T cell)。在肿瘤 免疫监视中,它们从外周血迁移到TME,对肿瘤细 胞进行直接识别和杀伤^[56-57]。因此, TME中的 CD8+ TILs细胞是抗肿瘤免疫的重要参与者,其代谢功能 直接影响免疫效应功能和生存能力。然而,随着肿 瘤的进展, CD8⁺ TILs细胞往往表现出代谢耗竭和效 应功能下降的状态,导致肿瘤免疫逃逸。这主要是 受到TME中乏氧等免疫抑制性因素的综合性诱导, 造成线粒体受损和功能紊乱,表现为碎片化的线粒 体形态和显著减弱的有氧代谢水平,进而引起T细胞 功能耗竭^[58-59]。因此, T细胞代谢对于调节其免疫活 力至关重要[60]。

TME恶劣条件会诱导免疫细胞代谢重编程,给 TILs细胞的抗肿瘤反应带来严峻挑战。通常,即使 在氧气充足的条件下,肿瘤细胞仍优先选择通过糖 酵解而非更高效的氧化磷酸化来获取能量,这种代 谢特征被称为Warburg效应^[61]。这种代谢方式支持 肿瘤细胞的快速增殖,导致TME中葡萄糖和氧气竞 争性消耗,及代谢废物(如乳酸)异常积累,甚至改变 免疫细胞内基因表达情况,引发代谢应激,最终帮助 肿瘤细胞逃避免疫监视,抵抗自噬^[62]。例如,在葡萄 糖限制条件下,T细胞通过mTORC1途径抑制信号通 路,降低S6蛋白的磷酸化水平,减少多达十分之一的 抗原诱导基因的表达,削弱CD8⁺T细胞的黏附、增

殖能力及其分泌IFN-γ、粒细胞--巨噬细胞集落刺激 因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)和颗粒酶B等细胞因子的能力[63-64]。最近还 有研究发现,糖酵解酶甘油醛3-磷酸脱氢酶(3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)与IFNG mRNA 3'非 翻译区(untranslated region, UTR)结合,影响甘油醛 3-磷酸和IFN-γ水平。此外,抑制糖酵解或使用氧化 燃料(如半乳糖)也可导致免疫调节受体(如PD-1)的 表达增加[65]。PD-1通过抑制T细胞受体信号转导和 CD28介导的共刺激信号,导致T细胞耗竭和免疫应 答丧失^[66]。葡萄糖限制也被证明导致激活的T细胞 进入T细胞功能失活或失能状态^[67]。血管化不良导 致的缺氧是许多实体肿瘤的特征, 而HIF1-α诱导的 适应缺氧的基因信号与不良预后相关^[68]。缺氧也 发生在肠道结肠炎和风湿性关节炎等非恶性疾病 中[69-70]。此外,胸腺和次级淋巴器官在生理条件下 可能处于缺氧状态^[71]。然而,缺氧对T细胞的影响 因环境而异。有研究报道辅助性T细胞-17(T helper 17, Th17) CD4⁺ T细胞依赖HIF1-α作为Th17转录因 子——视黄酸受体相关孤儿受体gT(retinoid acid receptor-related orphan receptor gT, RORgT)的共因 子, 而其他 CD4⁺ T细胞亚型主要不依赖 HIF1-α, 甚 至可能受其抑制^[72-73]。相反,体内注射刀豆蛋白A 或抗CD3抗体后,富氧组织中T细胞活化标记物的 诱导效果最强,这表明肿瘤微环境中缺氧会显著削 弱效应T细胞的功能[71]。在T细胞介导的结肠炎模 型中, 乏氧可通过HIF1-α诱导FoxP3的表达, 并促进 诱导型 Treg细胞的产生,从而增强其抗炎作用。而 在HIF1-α缺陷模型中, Treg细胞的免疫抑制功能受 损[74]。重要的是,缺氧可保护肿瘤细胞免受抗肿瘤 免疫杀伤,并可促进HIF1-α依赖的PD-1配体1(PD-L1)的转录,从而抑制T细胞的功能^[75]。与此同时, 乳酸化(lactylation)修饰作为一种新兴的表观遗传 和代谢调控机制被报道。

为了发挥功能,活化的T细胞必须经历代谢重编程,从支持静息状态和免疫监视的能量导向的氧化代谢方式,转变为支持快速生长和生物合成的糖酵解和谷氨酰胺的代谢方式^[60,63,76-77]。然而,TME中葡萄糖缺乏对效应T细胞功能发挥构成严重障碍^[62]。这种代谢环境使T细胞在浸润TME时不得不应对极端的代谢挑战,以及肿瘤杀伤能力被削弱的困境。近期,有研究利用骨髓基质细胞(bone marrow mesenchymal

stromal cells, BMSCs)与CD8⁺T细胞之间纳米管连接,向T细胞输送外源性线粒体,使之具备更强的抗肿瘤效应^[78]。可见,挽救线粒体的功能可有效增强T 细胞的抗肿瘤活性。

2.2 线粒体融合与T细胞耗竭

线粒体融合在调控T细胞耗竭的激活、增殖、 分化及抗肿瘤过程中发挥关键作用^[79]。T细胞根据 其不同的生理功能,有不同的代谢需求^[76]。初始T 细胞(naïve T cell)主要通过氧化磷酸化和脂肪酸氧 化来满足代谢需要。激活后,初始T细胞快速增殖 并分化成效应T细胞(effector T cell),在此过程中采 取以糖酵解为主的代谢方式; 当效应T细胞转变成 记忆T细胞后,其主要代谢方式又转换为线粒体有 氧代谢,包括脂肪酸的氧化代谢。此外,在发育过 程中, T细胞激活多种代谢途径, 为分化和功能提供 能量[80]。线粒体是能量代谢的中心,而线粒体功能 与线粒体形态息息相关,因此线粒体形态对T细胞 功能密切相关。研究发现, IL-2诱导的效应T细胞 由于DRP1的Ser616位点发生磷酸化,导致线粒体分 裂,形成小的线粒体分散在整个细胞质中,导致合成 代谢增多。相反地,记忆T细胞需要分解代谢才能 存活很长时间,因而有更多的融合线粒体[81]。进一 步发现, OPA1对记忆T细胞的发育起重要作用, 而 对效应T细胞的发育不起作用。OPA1缺乏会改变 和破坏线粒体嵴,引起氧化磷酸化活性降低。因此, OPA1可能与线粒体嵴的重塑有关,最终导致记忆T 和效应T细胞代谢的差异。相一致的,疫苗接种后 CD8⁺ T细胞含有较少且略小的线粒体,类似于记忆 细胞的代谢表型,但其线粒体要大于主动感染时的 线粒体,以支持克隆扩展^[82]。另外,不同的效应T细 胞亚群有不同的代谢需求,其中Th1、Th17和Th2细 胞高糖酵解,而Treg脂质氧化速率高^[83-84]。因此,这 些细胞亚群可能在线粒体动力学上有一些差异,特 别是在分裂和融合方面。在Treg中,脂肪酸结合蛋 白-5(fatty acid binding protein 5, FABP5)的缺失导致 氧化磷酸化活性降低,脂质代谢受损,嵴结构缺失, 通过cGAS-STING-依赖的I型干扰素信号通路抑制 Treg的活性^[84]。在体外生成的Treg中抑制FABP5可 产生较小且嵴较大的线粒体,而在未处理的体外生 成的Treg中可观察到线粒体变长且嵴较紧密。在肾 透明细胞癌中,功能受损的CD8⁺TILs也显示线粒体 碎片化和ROS大量积累^[85]。线粒体动力学在T细胞 中起着重要作用,但其机制尚不清楚,有必要进行深入的研究。

我们课题组近期从肿瘤样本中分离CD8⁺T细胞进行单细胞RNA测序,经分析发现,随着CD8⁺T 细胞的激活和氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)的增强,MFN2的表达水平逐渐升高^[86]。 缺失MFN2的CD8⁺T细胞则表现出线粒体代谢和功 能下降。具体来说,这些细胞的氧化磷酸化受到抑 制,线粒体脂肪酸氧化(fatty acid β-oxidation, FAO) 减少,从而降低了细胞的效应功能和存活率。同时, MFN2缺失导致的代谢适应性下降会加速肿瘤生 长。因此,MFN2在T细胞代谢适应性中发挥关键作 用。

线粒体与ER在细胞内钙稳态中扮演重要角色, 通过调节钙离子的摄取和释放来影响细胞代谢、信 号转导和凋亡等多种生理过程。研究发现MFN2通 过与内质网Ca²⁺-ATP酶SERCA2的相互作用,形成线 粒体与ER的跨膜接触,进而促进线粒体的Ca²⁺摄入 (图3)。Ca²⁺摄入对线粒体关键酶的活化至关重要, 保证ATP的充足产生并支持细胞的代谢需求。在 MFN2缺失的情况下,线粒体与ER的接触减少,导致 Ca²⁺摄入不足, 使CD8⁺ T细胞在肿瘤环境中的代谢 和存活能力受到显著影响。MFN2与SERCA2的相 互作用不仅促进了Ca²⁺从ER流向线粒体,同时也帮 助了SERCA2在内质网中回收Ca²⁺,防止了线粒体 中过量的Ca²⁺积累而导致细胞凋亡。研究发现,通 过促进线粒体与ER的适度接触,MFN2在CD8+T细 胞中建立了一种"缓冲-桥接"机制,既保障了线粒体 的代谢需求,又避免了Ca²⁺过载引起的线粒体损伤。 在肿瘤模型中,通过增加CD8+T细胞中的MFN2表 达,能够提高这些细胞的抗肿瘤功能。特别是在小 鼠模型的实验中, 增加MFN2水平显著提高了T细 胞的存活率,增强了T细胞的代谢适应性,从而改善 了免疫治疗的效果。研究还显示,采用合成的线粒 体-ER桥接蛋白,可以在MFN2缺失的情况下部分恢 复细胞的代谢功能,但会带来Ca²⁺浓度过载的风险。

鉴于MFN2在CD8⁺T细胞的抗肿瘤功能方面的 正反馈作用,提高MFN2的表达或者增强其功能可 能是提高肿瘤免疫治疗效果的有益策略。当前,已 经出现了一些可促进线粒体融合的小分子化合物。 其中,源于绣线菊天然产物的衍生物S89可直接结合 线粒体融合蛋白MFN1,使之稳定在功能激活态,从



图3 MFN2在线粒体-内质网接触点与SERCA2相互作用,以维持钙稳态(改编自参考文献[86]) Fig.3 MFN2 interacts with SERCA2 at mito-ER contact sites to maintain calcium homeostasis (modified from reference [86])

而实现促进线粒体融合的作用^[87]。体内研究表明, S89可以通过延伸线粒体、减少线粒体去极化、缓 解线粒体氧化应激、增加线粒体 ATP产量等修补线 粒体功能损伤。另一个可重塑线粒体形态的药物 是mdivi-1(mitochondrial division inhibitor-1), 该小分 子化合物主要靶向线粒体分裂蛋白Drp1,可以抑制 Drp1蛋白的GTP酶活性,干扰其组装,进而抑制线粒 体分裂,导致线粒体网络呈现融合态^[88]。有研究表 明, mdivi-1可改善线粒体功能, 减轻氧化应激, 减少 神经退行性病变[89]。然而,这些化合物对肿瘤的影 响可能更加复杂,尤其是mdivi-1,其直接靶点Drp1 在细胞周期、分化和线粒体自噬等重要事件中均发 挥着重要作用,一旦被抑制,很可能产生较大副作 用。无论如何,这些药物都在改善线粒体形态和代 谢等功能方面表现出不错的效果,并为靶向MFN2 的药物开发提供了方向。

3 总结和展望

综上所述, MFN1和MFN2通过GTP水解驱动聚 合状态和构象变化, 以及二者的协同作用, 在线粒体 融合过程中发挥至关重要的作用。然而, 其全长结 构和具体作用机制仍有待进一步揭示。特别是在线 粒体膜融合过程中, GTP水解如何驱动MFN1/2整体 构象变化, 二者间相互作用的方式, 以及二者如何协 同完成线粒体融合。这些问题的解决将为揭示线粒 体外膜融合的分子机制提供更深层次的理解, 并为 CMT2A等相关疾病的治疗策略开发奠定理论依据。

MFN2作为线粒体融合和分裂平衡的核心蛋白, 还重点参与调节T细胞中线粒体-ER钙稳态。这种 双重作用机制为线粒体形态稳定和T细胞代谢适应 性提供了关键支持, 尤其在肿瘤微环境的复杂条件 下具有重要意义。肿瘤微环境中的缺氧、乳酸堆积 和营养缺乏等因素,通常导致线粒体呈现出碎片化 的状态,这种现象与T细胞的效应功能衰退及免疫耗 竭相关。MFN2通过促进线粒体-ER接触点的形成, 优化钙的高效转运与分布,激活线粒体关键代谢酶, 从而提高 ATP 的生成效率。这种机制不仅增强了 CD8+T细胞在肿瘤微环境中的存活能力,还改善了 其对抑制性代谢信号的耐受性。此外, MFN2通过调 节线粒体融合,提升了线粒体网络的稳定性和功能 完整性,从而进一步强化了T细胞的能量代谢和效应 功能。其在跨膜接触和融合方面的双重作用,为肿 瘤微环境中CD8+T细胞的代谢稳定和功能修复提供 了新的维度。

鉴于MFN2在维持肿瘤浸润CD8⁺T细胞代谢状态中的重要作用,其将成为抗肿瘤免疫治疗策略的 潜在靶点。通过过表达MFN2来增强CAR-T细胞的 代谢持久性和效应功能,或开发直接靶向MFN2的 药物以促进线粒体融合和恢复线粒体功能的药物, 将有望逆转T细胞耗竭状态,进而改善肿瘤免疫治疗 的效果。

参考文献 (References)

 WILLIS E J. The powerhouse of the cell [J]. Ultrastruct Pathol, 1992, 16(3): iii-vi.

- [2] GREEN D R, REED J C. Mitochondria and apoptosis [J]. Science, 1998, 281(5381): 1309-12.
- [3] KROEMER G, REED J C. Mitochondrial control of cell death [J]. Nat Med, 2000, 6(5): 513-9.
- [4] LEVENSON R, MACARA I G, SMITH R L, et al. Role of mitochondrial membrane potential in the regulation of murine erythroleukemia cell differentiation [J]. Cell, 1982, 28(4): 855-63.
- [5] WEINBERG S E, SENA L A, CHANDEL N S. Mitochondria in the regulation of innate and adaptive immunity [J]. Immunity, 2015, 42(3): 406-17.
- [6] MISHRA P, CHAN D C. Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(10): 634-46.
- [7] HOPPINS S. The regulation of mitochondrial dynamics [J]. Curr Opin Cell Biol, 2014, 29: 46-52.
- [8] GIACOMELLO M, PYAKUREL A, GLYTSOU C, et al. The cell biology of mitochondrial membrane dynamics [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(4): 204-24.
- [9] ALTIERI D C. Mitochondrial dynamics and metastasis [J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(5): 827-35.
- [10] ZEMIRLI N, MOREL E, MOLINO D. Mitochondrial dynamics in basal and stressful conditions [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(2):564.
- [11] JIAO H, JIANG D, HU X, et al. Mitocytosis, a migrasomemediated mitochondrial quality-control process [J]. Cell, 2021, 184(11): 2896-910,e13.
- [12] TABARA L C, BURR S P, FRISON M, et al. MTFP1 controls mitochondrial fusion to regulate inner membrane quality control and maintain mtDNA levels [J]. Cell, 2024, 187(14): 3619-37,e27.
- [13] ACHLEITNER G, GAIGG B, KRASSER A, et al. Association between the endoplasmic reticulum and mitochondria of yeast facilitates interorganelle transport of phospholipids through membrane contact [J]. Eur J Biochem, 1999, 264(2): 545-53.
- [14] RIZZUTO R, PINTON P, CARRINGTON W, et al. Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca²⁺ responses [J]. Science, 1998, 280(5370): 1763-6.
- [15] BENADOR I Y, VELIOVA M, MAHDAVIANI K, et al. Mitochondria bound to lipid droplets have unique bioenergetics, composition, and dynamics that support lipid droplet expansion [J]. Cell Metab, 2018, 27(4): 869-85,e6.
- [16] PENG W, WONG Y C, KRAINC D. Mitochondria-lysosome contacts regulate mitochondrial Ca²⁺ dynamics via lysosomal TRPML1 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(32): 19266-75.
- [17] CHAN D C. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease [J]. Annu Rev Pathol, 2020, 15: 235-59.
- [18] WESTERMANN B. Mitochondrial fusion and fission in cell life and death [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2010, 11(12): 872-84.
- [19] CHAN D C. Fusion and fission: interlinked processes critical for mitochondrial health [J]. Annu Rev Genet, 2012, 46: 265-87.
- [20] EL-HATTAB A W, SULEIMAN J, ALMANNAI M, et al. Mitochondrial dynamics: biological roles, molecular machinery, and related diseases [J]. Mol Genet Metab, 2018, 125(4): 315-21.
- [21] CHEN H, CHAN D C. Physiological functions of mitochondrial fusion [J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1201: 21-5.
- [22] SANTEL A, FULLER M T. Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin [J]. J Cell Sci, 2001, 114(Pt 5): 867-

74.

- [23] CIPOLAT S, MARTINS DE BRITO O, DAL ZILIO B, et al. OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(45): 15927-32.
- [24] HALES K G, FULLER M T. Developmentally regulated mitochondrial fusion mediated by a conserved, novel, predicted GT-Pase [J]. Cell, 1997, 90(1): 121-9.
- [25] SESAKI H, JENSEN R E. Division versus fusion: Dnm1p and Fzo1p antagonistically regulate mitochondrial shape [J]. J Cell Biol, 1999, 147(4): 699-706.
- [26] GAO H, SAGE T L, OSTERYOUNG K W. FZL, an FZO-like protein in plants, is a determinant of thylakoid and chloroplast morphology [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(17): 6759-64.
- [27] SHEPARD K A, YAFFE M P. The yeast dynamin-like protein, Mgm1p, functions on the mitochondrial outer membrane to mediate mitochondrial inheritance [J]. J Cell Biol, 1999, 144(4): 711-20.
- [28] GAO S, HU J. Mitochondrial fusion: the machineries in and out [J]. Trends Cell Biol, 2021, 31(1): 62-74.
- [29] FAELBER K, POSOR Y, GAO S, et al. Crystal structure of nucleotide-free dynamin [J]. Nature, 2011, 477(7366): 556-60.
- [30] KONG L, SOCHACKI K A, WANG H, et al. Cryo-EM of the dynamin polymer assembled on lipid membrane [J]. Nature, 2018, 560(7717): 258-62.
- [31] FROHLICH C, GRABIGER S, SCHWEFEL D, et al. Structural insights into oligomerization and mitochondrial remodelling of dynamin 1-like protein [J]. EMBO J, 2013, 32(9): 1280-92.
- [32] KALIA R, WANG R Y, YUSUF A, et al. Structural basis of mitochondrial receptor binding and constriction by DRP1 [J]. Nature, 2018, 558(7710): 401-5.
- [33] JIMAH J R, KUNDU N, STANTON A E, et al. Cryo-EM structures of membrane-bound dynamin in a post-hydrolysis state primed for membrane fission [J]. Dev Cell, 2024, 59(14): 1783-93,e5.
- [34] ROCHON K, BAUER B L, ROETHLER N A, et al. Structural basis for regulated assembly of the mitochondrial fission GTPase Drp1 [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 1328.
- [35] FAELBER K, DIETRICH L, NOEL J K, et al. Structure and assembly of the mitochondrial membrane remodelling GTPase Mgm1 [J]. Nature, 2019, 571(7765): 429-33.
- [36] YU C, ZHAO J, YAN L, et al. Structural insights into G domain dimerization and pathogenic mutation of OPA1 [J]. J Cell Biol, 2020, 19(7): e201907098.
- [37] VON DER MALSBURG A, SAPP G M, ZUCCARO K E, et al. Structural mechanism of mitochondrial membrane remodelling by human OPA1 [J]. Nature, 2023, 620(7976): 1101-8.
- [38] CAO Y L, MENG S, CHEN Y, et al. MFN1 structures reveal nucleotide-triggered dimerization critical for mitochondrial fusion [J]. Nature, 2017, 542(7641): 372-6.
- [39] LI Y J, CAO Y L, FENG J X, et al. Structural insights of human mitofusin-2 into mitochondrial fusion and CMT2A onset [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 4914.
- [40] LOW H H, LOWE J. A bacterial dynamin-like protein [J]. Nature, 2006, 444(7120): 766-9.
- [41] LOW H H, SACHSE C, AMOS L A, et al. Structure of a bacterial dynamin-like protein lipid tube provides a mechanism for as-

sembly and membrane curving [J]. Cell, 2009, 139(7): 1342-52.

- [42] WANG M, GUO X, YANG X, et al. Mycobacterial dynamin-like protein IniA mediates membrane fission [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3906.
- [43] GEWEHR L, JUNGLAS B, JILLY R, et al. SynDLP is a dynamin-like protein of synechocystis sp. PCC 6803 with eukaryotic features [J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 2156.
- [44] EURA Y, ISHIHARA N, YOKOTA S, et al. Two mitofusin proteins, mammalian homologues of FZO, with distinct functions are both required for mitochondrial fusion [J]. J Biochem, 2003, 134(3): 333-44.
- [45] PIPIS M, FEELY S M E, POLKE J M, et al. Natural history of Charcot-Marie-Tooth disease type 2A: a large international multicentre study [J]. Brain, 2020, 143(12): 3589-602.
- [46] CHEN H, DETMER S A, EWALD A J, et al. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development [J]. J Cell Biol, 2003, 160(2): 189-200.
- [47] KOSHIBA T, DETMER S A, KAISER J T, et al. Structural basis of mitochondrial tethering by mitofusin complexes [J]. Science, 2004, 305(5685): 858-62.
- [48] FRANCO A, KITSIS R N, FLEISCHER J A, et al. Correcting mitochondrial fusion by manipulating mitofusin conformations [J]. Nature, 2016, 540(7631): 74-9.
- [49] QI Y, YAN L, YU C, et al. Structures of human mitofusin 1 provide insight into mitochondrial tethering [J]. J Cell Biol, 2016, 215(5): 621-9.
- [50] YAN L, QI Y, HUANG X, et al. Structural basis for GTP hydrolysis and conformational change of MFN1 in mediating membrane fusion [J]. Nat Struct Mol Biol, 2018, 25(3): 233-43.
- [51] DE MARTINO M, RATHMELL J C, GALLUZZI L, et al. Cancer cell metabolism and antitumour immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2024, 24(9): 654-69.
- [52] SI X, SHAO M, TENG X, et al. Mitochondrial isocitrate dehydrogenase impedes CAR T cell function by restraining antioxidant metabolism and histone acetylation [J]. Cell Metab, 2024, 36(1): 176-92,e10.
- [53] JIN M Z, JIN W L. The updated landscape of tumor microenvironment and drug repurposing [J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 166.
- [54] FARHOOD B, NAJAFI M, MORTEZAEE K. CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: a review [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 8509-21.
- [55] MELIEF C J. Mutation-specific T cells for immunotherapy of gliomas [J]. N Engl J Med, 2015, 372(20): 1956-8.
- [56] DRANOFF G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(1): 11-22.
- [57] BORST J, AHRENDS T, BABALA N, et al. CD4⁺ T cell help in cancer immunology and immunotherapy [J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(10): 635-47.
- [58] YU Y R, IMRICHOVA H, WANG H, et al. Disturbed mitochondrial dynamics in CD8⁺ TILs reinforce T cell exhaustion [J]. Nat Immunol, 2020, 21(12): 1540-51.
- [59] VARDHANA S A, HWEE M A, BERISA M, et al. Impaired mitochondrial oxidative phosphorylation limits the self-renewal of T cells exposed to persistent antigen [J]. Nat Immunol, 2020, 21(9): 1022-33.

- [60] SISKA P J, RATHMELL J C. T cell metabolic fitness in antitumor immunity [J]. Trends Immunol, 2015, 36(4): 257-64.
- [61] WANG Y, PATTI G J. The Warburg effect: a signature of mitochondrial overload [J]. Trends Cell Biol, 2023, 33(12): 1014-20.
- [62] SCHROEDER T, YUAN H, VIGLIANTI B L, et al. Spatial heterogeneity and oxygen dependence of glucose consumption in R3230Ac and fibrosarcomas of the Fischer 344 rat [J]. Cancer Res, 2005, 65(12): 5163-71.
- [63] MACIVER N J, MICHALEK R D, RATHMELL J C. Metabolic regulation of T lymphocytes [J]. Annu Rev Immunol, 2013, 31: 259-83.
- [64] CHAM C M, DRIESSENS G, O'KEEFE J P, et al. Glucose deprivation inhibits multiple key gene expression events and effector functions in CD8⁺ T cells [J]. Eur J Immunol, 2008, 38(9): 2438-50.
- [65] CHANG C H, CURTIS J D, MAGGI L B, JR, et al. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis [J]. Cell, 2013, 153(6): 1239-51.
- [66] PAUKEN K E, WHERRY E J. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer [J]. Trends Immunol, 2015, 36(4): 265-76.
- [67] ZHENG Y, DELGOFFE G M, MEYER C F, et al. Anergic T cells are metabolically anergic [J]. J Immunol, 2009, 183(10): 6095-101.
- [68] SEMENZA G L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine [J]. Cell, 2012, 148(3): 399-408.
- [69] GLOVER L E, BOWERS B E, SAEEDI B, et al. Control of creatine metabolism by HIF is an endogenous mechanism of barrier regulation in colitis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(49): 19820-5.
- [70] LI X, WANG Y, LI X, et al. Hypoxia-induced transcription factor lalpha: a potent driving force behind rheumatoid arthritis [J]. Clin Exp Rheumatol, 2014, 32(5): 760.
- [71] OHTA A, DIWANJI R, KINI R, et al. *In vivo* T cell activation in lymphoid tissues is inhibited in the oxygen-poor microenvironment [J]. Front Immunol, 2011, 2: 27.
- [72] DANG E V, BARBI J, YANG H Y, et al. Control of T(H)17/ T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1 [J]. Cell, 2011, 146(5): 772-84.
- [73] SHI L Z, WANG R, HUANG G, et al. HIF1alpha-dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells [J]. J Exp Med, 2011, 208(7): 1367-76.
- [74] CLAMBEY E T, MCNAMEE E N, WESTRICH J A, et al. Hypoxia-inducible factor-1 alpha-dependent induction of FoxP3 drives regulatory T-cell abundance and function during inflammatory hypoxia of the mucosa [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(41): E2784-93.
- [75] BARSOUM I B, SMALLWOOD C A, SIEMENS D R, et al. A mechanism of hypoxia-mediated escape from adaptive immunity in cancer cells [J]. Cancer Res, 2014, 74(3): 665-74.
- [76] WANG R, GREEN D R. Metabolic reprogramming and metabolic dependency in T cells [J]. Immunol Rev, 2012, 249(1): 14-26.
- [77] PEARCE E L, POFFENBERGER M C, CHANG C-H, et al. Fueling Immunity: insights into metabolism and lymphocyte function [J]. Science, 2013, 342(6155): 1242454.
- [78] BALDWIN J G, HEUSER-LOY C, SAHA T, et al. Intercel-

lular nanotube-mediated mitochondrial transfer enhances T cell metabolic fitness and antitumor efficacy [J]. Cell, 2024, 187(23): 6614-30,e21.

- [79] XIE J H, LI Y Y, JIN J. The essential functions of mitochondrial dynamics in immune cells [J]. Cell Mol Immunol, 2020, 17(7): 712-21.
- [80] BUCK M D, O'SULLIVAN D, PEARCE E L. T cell metabolism drives immunity [J]. J Exp Med, 2015, 212(9): 1345-60.
- [81] BUCK M D, O'SULLIVAN D, KLEIN GELTINK R I, et al. Mitochondrial dynamics controls T cell fate through metabolic programming [J]. Cell, 2016, 166(1): 63-76.
- [82] KLARQUIST J, CHITRAKAR A, PENNOCK N D, et al. Clonal expansion of vaccine-elicited T cells is independent of aerobic glycolysis [J]. Sci Immunol, 2018, 3(27): eaas9822.
- [83] MICHALEK R D, GERRIETS V A, JACOBS S R, et al. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4⁺ T cell subsets [J]. J Immunol, 2011, 186(6): 3299-303.
- [84] FIELD C S, BAIXAULI F, KYLE R L, et al. Mitochondrial Integrity regulated by lipid metabolism is a cell-intrinsic checkpoint for Treg suppressive function [J]. Cell Metab, 2020, 31(2):

422-37,e5.

- [85] SISKA P J, BECKERMANN K E, MASON F M, et al. Mitochondrial dysregulation and glycolytic insufficiency functionally impair CD8 T cells infiltrating human renal cell carcinoma [J]. JCI Insight, 2017, 2(12): e93411.
- [86] YANG J F, XING X, LUO L, et al. Mitochondria-ER contact mediated by MFN2-SERCA2 interaction supports CD8⁺ T cell metabolic fitness and function in tumors [J]. Sci Immunol, 2023, 8(87): eabq2424.
- [87] GUO Y, ZHANG H, YAN C, et al. Small molecule agonist of mitochondrial fusion repairs mitochondrial dysfunction [J]. Nat Chem Biol, 2023, 19(4): 468-77.
- [88] CASSIDY-STONE A, CHIPUK J E, INGERMAN E, et al. Chemical inhibition of the mitochondrial division dynamin reveals its role in Bax/Bak-dependent mitochondrial outer membrane permeabilization [J]. Dev Cell, 2008, 14(2): 193-204.
- [89] MEDALA V K, GOLLAPELLI B, DEWANJEE S, et al. Mitochondrial dysfunction, mitophagy, and role of dynamin-related protein 1 in Alzheimer's disease [J]. J Neurosci Res, 2021, 99(4): 1120-35.