

# 线粒体自噬的分子机制及其对肝脏疾病潜在治疗价值的研究进展

张丽泳<sup>1</sup>, 欧阳晓晖<sup>2#</sup>, 苏秀兰<sup>3#</sup>

(1. 内蒙古医科大学, 呼和浩特 010050; 2. 内蒙古自治区人民医院, 呼和浩特 010050; 3. 内蒙古医科大学附属第一医院 临床医学研究中心, 呼和浩特 010050)

**摘要:** 线粒体自噬并不是线粒体自我吞噬的过程, 而是细胞为维持一种稳定状态而特异性清除自身异常线粒体的过程。线粒体自噬分子途径涉及 PINK1-PARKIN 途径、NIX 和 BNIP3、FUNDC1 和 SMURF1 等。本文综述了线粒体自噬的分子机制及其对肝纤维化及延伸的众多肝脏疾病的潜在治疗价值, 以期为日后分子机制层面的探究提供帮助。

**关键词:** 线粒体自噬; 肝纤维化; 机制

**中图分类号:** R392.11

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-2478(2019)01-0068-04

线粒体主要产生 ATP, 为生命活动提供能量来源。而线粒体自噬是一种维持线粒体稳态的免疫防御反应, 参与各种疾病的发展和转归, 与神经退行性疾病、缺血或药物引起的肝组织损伤、肝纤维化、肿瘤等的发展和转归密切相关。

## 1 线粒体自噬的分子机制

1962年 Ashford 和 Porter 最先发现自噬是一种防御和调节机制。而线粒体自噬是由 PINK1 和 PARKIN 蛋白介导的选择性地去除异常线粒体的过程, 这些蛋白由帕金森病相关基因编码<sup>[1]</sup>。

**1.1 线粒体自噬过程** 已有的研究将线粒体自噬的过程划分为两个步骤, 提出线粒体自噬的“两步模型”<sup>[2]</sup>, 第一步是损伤的自噬相关基因 (autophagy-associated gene, ATG) 上游蛋白在自噬小体形成位点处聚集。线粒体损伤后, 其外膜蛋白会激活 PARKIN 介导的泛素化反应。泛素化的线粒体及 ATG 上游蛋白与自噬小体形成位点发生联系。该过程不依赖于自噬微管相关蛋白轻链 3 (microtubule-associated protein light chain 3, LC3-II), 也不需要隔离膜的参与。第二步是自噬小体形成。内质网上脱离的隔离膜结构包裹损伤的线粒体, 后与溶酶体融合, 最终导致损伤的线粒体被降解。此

过程需要 LC3-II 及连接线粒体与 LC3 的接头蛋白 p62、NBR1 及 optineurin 等的参与。此外, NIX/BNIP3、FUNDC1、SMURF1 等也在此过程中发挥了重要作用。

**1.2 线粒体自噬途径** 线粒体自噬涉及如下多种途径。

**1.2.1 PINK1-PARKIN 途径** PINK1 位于线粒体外膜, 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶; PARKIN 是 E3 泛素连接酶, 主要定位于细胞质。PARKIN 的磷酸化可促进 PARKIN 从细胞质向线粒体的转运。研究表明, PINK1 和 PARKIN 介导了线粒体膜电位下降, 从而诱导线粒体自噬<sup>[3]</sup>。正常功能的细胞的 PINK1 可以转运进入线粒体, 随后在衰老蛋白相关菱形蛋白 PARL 的酶切作用下, 其 C 端脱入细胞质, 被蛋白酶体降解<sup>[4]</sup>。线粒体膜电位降低时, PINK1 进入线粒体内膜受阻, 以致其在线粒体外膜聚集后发生磷酸化泛素化, 促进 PARKIN 从细胞质转运到线粒体<sup>[3, 5]</sup>。PARKIN 转位后泛素化线粒体外膜蛋白, 导致接头蛋白 p62 在线粒体的聚集<sup>[3, 6]</sup>。p62 具有 LIR 模体结构, 可通过和 LC3 的特异性结合介导自噬体膜包裹线粒体及最终线粒体自噬的发生<sup>[6]</sup>。

PINK1/PARKIN 介导的线粒体泛素化可以促进同样具有 LIR 模体结构的自噬接头蛋白 OPTN、NDP52 在线粒体的聚集及丝氨酸激酶 TBK1 的激活, 从而引起线粒体自噬而不依赖 PARKIN<sup>[7]</sup>。在线粒体自噬的过程中, 线粒体的泛素化具有重要意义<sup>[8]</sup>。文献报道, 过表达的去泛素化酶 USP30 和 USP35 可以抑制 PARKIN 诱导的线粒体自噬,

收稿日期: 2018-05-24

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(81660468)

作者简介: 张丽泳(1992-), 女, 硕士生, 主要从事肝胆方向研究

通信作者: 欧阳晓晖(E-mail: 148151812@qq.com); 苏秀兰(E-mail: xlsu@hotmail.com); # 为共同通信作者

干扰 USP30 和 USP35 的表达可以促进 PARKIN 诱导的线粒体自噬,提示 USP30 和 USP35 参与了 PARKIN 诱导的线粒体自噬的负向调控机制<sup>[9]</sup>。另有研究报道去泛素化酶 USP30 是通过拮抗 PARKIN 介导的线粒体蛋白的泛素化来抑制线粒体自噬<sup>[10]</sup>。有研究却证明去泛素化酶 USP8 通过引起 PARKIN 的去泛素化正向调控线粒体自噬的发生,并且发现 PARKIN 上连接的 K6 泛素结合物抑制了 PARKIN 的转位及随后线粒体自噬的发生<sup>[11]</sup>。但是,当线粒体去极化时,USP8 可以去除 PARKIN 上的 K6 泛素结合物导致线粒体自噬。

1.2.2 NIX 和 BNIP3 NIX 定位于线粒体外膜,是哺乳动物线粒体自噬受体,与红细胞成熟过程中的线粒体自噬密切相关<sup>[12-13]</sup>。研究发现,在网织红细胞成熟过程中或 CCCP 诱导的线粒体损伤模型中,存在于 NIX 氨基端的 LIR 模体能够通过募集 LC3 引起线粒体自噬,而当切除 NIX-LC3 反应结构域时,线粒体自噬明显受到了抑制,说明 NIX 是通过其特有的自噬受体结构介导了线粒体自噬的发生<sup>[12]</sup>。BNIP3 表达于线粒体和内质网,在低氧条件下也可以通过 LIR 模体与 LC3 的彼此作用诱导线粒体自噬的发生<sup>[14]</sup>。另有文献报道,BNIP3 的磷酸化修饰可以增强与 LC3 的彼此作用,促进线粒体自噬<sup>[15]</sup>。

1.2.3 FUNDC1 FUNDC1 是一种线粒体自噬受体。线粒体自噬受体是一种位于线粒体外膜上的受体蛋白,具有与 LC3 反应的特征性氨基酸序列 W/Y/FxxI/L/V,即 LIR 模体,在低氧条件下,FUNDC1 可通过该结构与 LC3 彼此作用介导线粒体自噬。此时 Src 激酶活性降低,导致 FUNDC1 去磷酸化,从而促进了 FUNDC1 与 LC3 之间的彼此作用和线粒体自噬<sup>[16]</sup>。同时 FUNDC1 的去磷酸化也在线粒体自噬中扮演着至关重要的角色。生理状态下的 Src 激酶可以将 FUNDC1 的 LIR 模体第 18 位氨基酸磷酸化。磷酸化的 FUNDC1 与 LC3 之间的彼此作用减弱,表现为对线粒体自噬的负向调节。又有文献报道,在缺氧或线粒体解偶联剂诱导的线粒体自噬中,表达增加的靶向自噬启动因子 ULK1 会转位到线粒体,通过磷酸化 FUNDC1 促进线粒体自噬的发生<sup>[17]</sup>。

1.2.4 SMURF1 SMURF1 是 HECT 类泛素连接酶,主要与细胞内 Smad 蛋白的泛素化降解及成骨细胞的功能调节相关<sup>[18]</sup>。有文献报道 SMURF1

也介导了线粒体自噬的发生。研究者发现利用 SMURF1 siRNA 下调 SMURF1 蛋白的表达可以抑制 CCCP 诱导的线粒体自噬,但并不影响非选择性自噬。此外,SMURF1 基因缺陷小鼠的组织中出现了损伤线粒体的累积,进一步证明了 SMURF1 在线粒体自噬中起到了重要的作用。进一步研究发现,SMURF1 介导的线粒体自噬并不依赖于其泛素连接酶活性,而是依赖于其氨基端的 C2 结构域。含突变 C2 结构域的 SMURF1 仍能被损伤的线粒体所募集,但是隔离膜包绕线粒体、形成自噬体的过程却出现了障碍,表明 SMURF1 很可能是通过 C2 结构域与自噬体相互作用<sup>[19]</sup>。

1.2.5 其他 除了以上介绍的线粒体自噬机制外,有文献报道线粒体外膜 E3 连接酶 MUL1 通过泛素化自噬上游信号分子 ULK1 介导了亚硒酸钠诱导的线粒体自噬<sup>[20]</sup>。此外,也有研究显示在缺氧条件下,依赖 AMPK 的 ULK1 磷酸化可以促进 ULK1 向线粒体的转位以及线粒体自噬的发生,提示自噬上游信号分子在调控线粒体自噬中的关键作用<sup>[4]</sup>。

## 2 肝纤维化机制及线粒体自噬对肝纤维化的作用

2.1 肝纤维化机制 肝纤维化是肝脏中一种细胞外基质(extracellular matrix, ECM)弥漫性过度沉积的动态发展过程,是众多肝脏疾病的共同病理基础。抑制肝纤维化并逆转病情的发展已成为近年来国内外研究的热点。

研究指出:肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)/金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP)平衡失调、TGF- $\beta$  三者在线纤维化形成的过程中彼此作用,形成一个复杂的网络系统<sup>[21]</sup>。

炎症纤维化形成阶段,HSC 活化并分化成肌纤维细胞,通过调节 MMP 和 TIMP 的表达,分泌以 I 型胶原为主的成分使 ECM 的降解与合成失去平衡,大量的 ECM、糖蛋白和碳水化合物沉积,炎症细胞和炎症因子浸润,形成肝纤维化<sup>[22]</sup>。肝纤维化中,合成增多的 MMP 使 ECM 的分解和合成都不同程度增加,从而使 ECM 的结构紊乱,促进 HSC 的凋亡,从而促进肝纤维化。

最新研究显示,二氢杨梅素能够促进 AMPK

的磷酸化。它对 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路起负向调控作用,明显抑制 HSC-T6 细胞的活化<sup>[23]</sup>。

所以在肝纤维化的发展中,应积极抑制胶原蛋白的产生并促进已经沉积的胶原蛋白的降解,从而对肝纤维化起到标本兼治的效果。

**2.2 线粒体自噬在肝纤维化中的作用** 从分子机制上讲,虽然线粒体自噬和肝纤维化都是机体的应激防御反应,但机体宏观上的肝纤维化导致了微观的稳态失常,进一步发展将会导致肝脏不可逆性的永久性病理状态,而线粒体自噬恰侧重于微观层面,是一种挽回细胞失稳的防御反应,对肝纤维化有逆转作用。

已有研究对此进行了论证:在肝纤维化中 TOM20、HSP60 增加, PINK1 减少,提示了线粒体自噬在肝纤维化和 HSC 活化过程中受到抑制;当抑制线粒体自噬时,形态学上表现为 I 型胶原表达量增加,肝纤维化增多,可以推测线粒体自噬的抑制能够诱导肝纤维化;当诱导线粒体自噬时, HSC 活化指数  $\alpha$ -SMA 和 I 型胶原表达量降低,可以推测线粒体自噬的诱导可抑制 HSC 的活化<sup>[24]</sup>。

又有研究显示:WT CCl<sub>4</sub> 小鼠的肝纤维化程度高于 FKBP5 基因敲除 CCl<sub>4</sub> 小鼠,同时 WT CCl<sub>4</sub> 小鼠机体抵抗肝纤维化的反应更强;FKBP5 基因敲除 CCl<sub>4</sub> 小鼠的线粒体自噬相关蛋白 PARKIN 和 PINK1 的表达高于 WT CCl<sub>4</sub> 小鼠;同时电镜佐证 FKBP5 基因敲除 CCl<sub>4</sub> 小鼠的线粒体自噬情况较 WT CCl<sub>4</sub> 小鼠严重<sup>[25]</sup>。

以上研究为治疗肝纤维化提供了新的途径,然而目前未有深入机制层面的相关研究,这将成为未来有待攻克的难题。

### 3 线粒体自噬在肝脏疾病中的潜在治疗价值

肝脏细胞内含有大量的线粒体,以满足代谢活动的高能量需求。大量证据表明线粒体自噬是众多肝脏疾病的潜在机制,如脂肪变性,毒物、药物引起的肝损伤,炎症,肿瘤等<sup>[26]</sup>。维持正常的线粒体和有效的线粒体自噬对肝脏疾病有重大意义。

酒精性肝病是当今世界众多健康问题中不可忽视的一个。酒精会引起线粒体损伤,从而加剧酒精性肝损伤和脂肪变性,目前还没有有效的治疗方法。然而,已有研究证明线粒体自噬可以通过 PARKIN 清除受损的线粒体维持体内线粒体的稳态以预防细胞死亡及组织损伤,从而阻止酒精引起

的肝损伤及脂肪变性的进展<sup>[27]</sup>。乙酰氨基酚引起的肝损伤中,疾病的发展与肝细胞内的蛋白质和线粒体损伤有关<sup>[28]</sup>。增强线粒体自噬已被证明可以弥补自噬的不足,清除有毒的蛋白质聚集物和受损的线粒体,可以改善肝脏及线粒体生物学功能。

### 4 结语

线粒体自噬在肝纤维化、炎症及肿瘤预防中的作用为医务工作者打开了有效治疗肝纤维化及肝脏肿瘤的新方向。线粒体自噬可以有效且特异地清除受损或异常的线粒体,是一种早期的保护性反应,尽管研究者仍然对线粒体自噬的重要性和治疗潜力理解有限,但是增强线粒体自噬或许是攻克肝脏疾病的一个潜在可能<sup>[29]</sup>。

通过对线粒体自噬与肝纤维化的不断钻研,探索其在肝脏疾病中的作用,它们必将在肝脏疾病的预防与临床治疗实践中显示出巨大前景。

### 参考文献

- [1] Dagda RK, Kulich SM, Tandon A, *et al.* Loss of PINK1 function promotes mitophagy through effects on oxidative stress and mitochondrial fission[J]. *Autophagy*, 2009, 284(20): 13843-13855.
- [2] Yoshii SR, Mizushima N. Autophagy machinery in the context of mammalian mitophagy[J]. *Biochim Biophys Acta, Mol Cell Res*, 2015, 1853(10): 2797-2801.
- [3] Narendra DP, Jin SM, Tanaka A, *et al.* PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin[J]. *PLoS Biol*, 2010, 8(1): e1000298.
- [4] Tian W, Li W, Chen Y, *et al.* Phosphorylation of ULK1 by AMPK regulates translocation of ULK1 to mitochondria and mitophagy[J]. *FEBS Letters*, 2016, 589(15): 1847-1854.
- [5] Lazarou M, Jin SM, Kane L, *et al.* Role of PINK1 binding to the TOM complex and alternate intracellular membranes in recruitment and activation of the E3 ligase Parkin[J]. *Dev Cell*, 2012, 22(2): 320-333.
- [6] Geisler S, Kmskujat H. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1[J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(2): 119-131.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Wang Y, Serricchio M, Jauregui M, *et al.* Deubiquitinating enzymes regulate PARK2-mediated mitophagy[J]. *Autophagy*, 2015, 11(4): 595-606.

- [10] Bingol B, Tea JS, Phu L, *et al.* The mitochondrial deubiquitinase USP30 opposes parkin-mediated mitophagy[J]. *Nature*, 2014, 510(7505): 370-375.
- [11] Durcan TM, Fon EA. USP8 and PARK2/parkin-mediated mitophagy[J]. *Autophagy*, 2015, 11(2): 428-429.
- [12] Novak I, Kirkin V, Mcewan DG, *et al.* Nix is a selective autophagy receptor for mitochondrial clearance [J]. *EMBO Rep*, 2010, 11(1): 45-51.
- [13] Sandoval H, Thiagarajan P, Dasgupta SK, *et al.* Essential role for Nix in autophagic maturation of erythroid cells[J]. *Nature*, 2008, 454(7201): 232-235.
- [14] Hanna RA, Quinsay MN, Orogo AM, *et al.* Microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) interacts with Bnip3 protein to selectively remove endoplasmic reticulum and mitochondria via autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(23): 19094-19104.
- [15] Zhu Y, Massen S, Terenzio M, *et al.* Modulation of serines 17 and 24 in the LC3-interacting region of Bnip3 determines pro-survival mitophagy versus apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(2): 1099-1113.
- [16] Liu L, Feng D, Chen G, *et al.* Mitochondrial outer-membrane protein FUNDC1 mediates hypoxia-induced mitophagy in mammalian cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(2): 177-185.
- [17] Wu W, Tian W, Hu Z, *et al.* ULK1 translocates to mitochondria and phosphorylates FUNDC1 to regulate mitophagy [J]. *EMBO Rep*, 2014, 15(5): 566.
- [18] Xing L, Zhang M, Chen D. Smurf control in bone cells[J]. *J Cell Biochem*, 2010, 110(3): 554-563.
- [19] Orvedahl A, Jr SR, Xiao G, *et al.* Image-based genome-wide siRNA screen identifies selective autophagy factors[J]. *Nature*, 2011, 480(7375): 113-117.
- [20] Li J, Qi W, Chen G, *et al.* Mitochondrial outer-membrane E3 ligase MUL1 ubiquitinates ULK1 and regulates selenite-induced mitophagy [J]. *Autophagy*, 2015, 11(8): 1216-1229.
- [21] Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. Pathobiology of liver fibrosis: A translational success story[J]. *Gut*, 2015, 64(5): 830-841.
- [22] 鞠迪, 李京涛, 韩曼, 等. 肝星状细胞通过 TGF $\beta$ 1-PI3K/AKT 信号通路影响肝硬化-肝细胞癌前病变的研究进展 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2018(1).
- [23] 张玉, 周曦, 易龙, 等. 二氢杨梅素通过 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路抑制肝星状细胞活化的作用研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(4): 282-289.
- [24] 王苗苗. 线粒体自噬在肝纤维化中的作用 [D]. 河北医科大学, 2016.
- [25] 张玲玲. 糖皮质激素受体伴侣蛋白 FKBP51 通过线粒体自噬调节小鼠 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝脏纤维化 [D]. 北京协和医学院, 2017.
- [26] Czaja MJ, Ding WX, Donohue TM, *et al.* Functions of autophagy in normal and diseased liver[J]. *Autophagy*, 2013, 9(8): 1131.
- [27] Williams JA, Ding WX. A mechanistic review of mitophagy and its role in protection against alcoholic liver disease[J]. *Biomolecules*, 2015, 5(4): 2619-2642.
- [28] Sun K, Xu L, Jing Y, *et al.* Autophagy-deficient Kupffer cells promote tumorigenesis by enhancing mtROS-NF- $\kappa$ B-IL1 $\alpha$ / $\beta$ -dependent inflammation and fibrosis during the pre-neoplastic stage of hepatocarcinogenesis [J]. *Cancer Lett*, 2017, 388: 198-207.
- [29] Lee S, Kim JS. Mitophagy: therapeutic potentials for liver disease and beyond[J]. *Toxicol Res*, 2014, 30(4): 243-250.