·述评·

从线粒体动力学角度探索肾脏病治疗新策略

余宗超　尹良红　刘璠娜

通讯作者简介：刘璠娜，女，博士，副主任医师、副教授，硕士研究生导师，美国克利夫兰医学中心肾脏病与高血压中心访问学者。广东省医师协会肾内科分会委员，广东省女医师协会肾脏病与血液净化分会副主任委员。擅长急性或慢性肾脏病、糖尿病肾病及高血压肾病的防治，危重肾脏病管理，原发性及继发性肾小球疾病的诊治，血液净化各项技术的临床应用，血管通路的维护及维持性血液透析患者的管理与评估。主要从事慢性肾脏病防治的临床与基础研究。主持及参与多项国家、省、市科研课题。

【摘要】　线粒体是真核生物细胞中一种高度动态变化的细胞器，通过不断的融合分裂，维持线粒体网络的稳态，线粒体的动态平衡对肾脏、心脏、骨骼肌等组织器官功能的维持起着至关重要的作用。线粒体动力学在肾脏疾病发生、发展过程中的作用尚未完全阐明，但越来越多的证据表明，线粒体动力学改变广泛参与急性肾衰竭和糖尿病肾病等肾脏疾病的病理变化过程，该文介绍了近年来线粒体动力学与肾脏疾病病理变化研究所取得的最新进展，并提出肾脏病防治的新策略。

【关键词】　肾脏病；线粒体动力学；线粒体分裂；线粒体融合

New therapeutic strategy of kidney diseases from the perspective of mitochondrial dynamics

Yu Zongchao, Yin Lianghong, Liu Fanna. Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital of Ji'nan University, Guangzhou 510632, China

Corresponding author, Liu Fanna, E-mail: tliufana@jnu.edu.cn

【Abstract】　Mitochondria, as a highly dynamic organelle existing in the eukaryocyte, is able to maintain the stabilization of mitochondrial network by constant fusion and fission. Mitochondrial dynamics equilibrium plays a crucial role in maintaining the function of tissues and organs, such as kidney, heart, skeletal muscle, etc. However, the mechanism underlying the effect of mitochondrial dynamics upon the incidence and progression of kidney diseases remains elusive. Accumulated evidence has demonstrated that the changes in mitochondrial dynamics are widely involved with the pathogenesis and development of acute renal failure, diabetic nephropathy and alternative renal diseases. In this paper, recent research progresses in terms of the association between mitochondrial dynamics and kidney diseases were summarized and reviewed, aiming to explore novel prevention and treatment of renal diseases.

【Key words】　Kidney disease; Mitochondrial dynamics; Mitochondrial fission; Mitochondrial fusion

终末期肾脏病（ESRD）的流行病学资料显示，全球 ESRD 患者数持续增加。及时筛查、诊断、评估进展对延缓肾脏病进展至 ESRD 具有重要的临床意义。越来越多的证据表明，线粒体动力学广泛参与肾脏疾病的发生、发展过程。该文就线粒体动力学参与肾脏病的分子机制以及线粒体动力学参与肾脏病的临床诊治做一综述，旨在使临床医师对线粒体动力学与肾脏病的相互影响

DOI：10.3969/j.issn.0253-9802.2016.04.001
基金项目：2016 年广州市产学研协同创新重大专项民生科技专题；广东高校血液净化技术与设备工程技术研究中心建设项目（GCZX-A1104）
作者单位：510632 广州，暨南大学附属第一医院肾内科
通讯作者，刘璠娜，E-mail：tliufana@jnu.edu.cn

形成初步的认识。

一、线粒体动力学

线粒体是真核生物细胞中的主要产能细胞器，通过不断地融合与分裂维持着线粒体网络的稳定。线粒体可分裂变成更小的杆状或者球状结构；反之，线粒体融合则形成长链状或网状结构，这一过程称为线粒体动力学[1]。本文主要讨论以线粒体融合-分裂为代表的线粒体动力学在肾脏病发生、发展过程中所起的关键作用。

1. 线粒体分裂机制

哺乳动物细胞中，介导线粒体分裂的调控蛋白主要有动力相关蛋白 1（Drp1）和线粒体分裂蛋白 1（Fis1）。Drp1 在线粒体分裂过程中起着至关重要的作用，Drp1 在结构上由 N 末端鸟苷三磷酸酶（GTPase）结构域、中央结构域、C 末端 GTPase 效应结构域（GED）构成。正常情况下，Drp1 广泛分散在整个细胞质中。在激活情况下，Drp1 聚集到线粒体外膜的断裂位点上，组装成螺旋形结构驱使线粒体膜收缩，从而促进线粒体膜的分裂[2]。当线粒体分裂结束后，Drp1 又回到细胞质，在细胞质与靶细胞膜之间循环。敲除 Drp1 基因会抑制线粒体分裂，形成长杆状线粒体，Drp1 基因过度表达则会引起线粒体分裂，产生大量片段化线粒体[3]。

Fis1 为由 152 个氨基酸构成的小分子蛋白质，是哺乳动物细胞线粒体分裂机制的另一个重要组成部分。Fis1 通过 C 末端跨膜结构域（TMD）锚定在线粒体外膜上，N 末端暴露于细胞质[4]。Fis1 高表达会导致线粒体片段化，进而引起细胞色素 C 释放和细胞死亡[5]。

2. 线粒体融合机制

哺乳动物细胞中介导线粒体融合的调控蛋白主要有线粒体融合蛋白 1（Mfn1）、Mfn2、视神经萎缩症蛋白 1（OPA1）。线粒体外膜的融合涉及到 Mfn，而 OPA1 则参与线粒体内膜的融合，线粒体的融合是从线粒体外膜的彼此连接和融合开始，接下来才是内膜的融合[6]。

Mfn1 和 Mfn2 分子结构相似，N 末端朝向细胞质，含有 GTPase 结构域，C-末端跨膜区两侧各有 1 个疏水集团，为七肽重复序列（HR1/2），在线粒体外膜融合过程中，2 个相邻线粒体外膜上的 Mfn1 或 Mfn2 通过形成反向平行的螺旋形二聚体相互连接，进而促进线粒体外膜融合[7]。

如前所述，线粒体外膜的融合涉及到 Mfn，而 OPA1 则参与线粒体内膜的融合。在结构上，OPA1 N 末端有一个线粒体膜插入序列，C 末端有一个 GTPase 效应结构域，其他的功能域位于中间。抑制 OPA1 基因的表达可导致线粒体分裂，形成片段化线粒体；选择性敲除 Mfn1 基因时，OPA1 失去促进线粒体融合的作用，可见 3 种调控线粒体融合的蛋白对线粒体融合均是必不可少的[8]。

二、线粒体动力学与肾脏病

肾脏病包括急性肾损伤（AKI）与慢性肾脏病（CKD），均以肾组织损伤与肾功能下降为特征。无论是 AKI 还是慢性肾衰竭（CRF），均有着涉及包括线粒体动力学在内的复杂病因和发病机制。越来越多的证据表明，急性和慢性肾脏损伤中均有明显的线粒体动力学改变，包括缺血-再灌注肾损伤、中毒性肾损伤以及糖尿病肾病（DN）。在损伤的肾细胞中，正常的丝状线粒体分裂成片段状，而片段状的线粒体则导致线粒体损伤以及细胞死亡。由此推测，线粒体动力学改变可能是引起肾脏相关损伤的致病机制之一。

1. 线粒体动力学与 AKI

前期研究证实，线粒体动力学异常是引起肾小管上皮细胞损伤的重要因素。为了进一步证实线粒体动力学改变在 AKI 时线粒体损伤以及肾小管上皮细胞凋亡过程中发挥的作用，Brooks 等[9]观察缺血以及顺铂介导的 AKI 肾小管上皮细胞中线粒体的形态学改变，发现 AKI 时肾小管上皮细胞线粒体迅速发生分裂，且线粒体分裂发生在以细胞色素 C 释放为标志的线粒体外膜通透性改变之前，线粒体分裂蛋白 Drp1 在肾小管上皮细胞损伤早期便被激活并且向线粒体聚集，通过显性负突变体或小片段干扰 RNA（siRNA）抑制 Drp1，可以阻止线粒体分裂、细胞外膜通透性改变以及细胞凋亡。另外，在 AKI 小鼠模型中，可以通过二维和三维电子显微镜观察到肾小管上皮细胞线粒体的分裂，缺血-再灌注肾损伤可导致 30% ~40% 的肾小管上皮细胞出现线粒体分裂。Xiao 等[10]发现，OPA1 的蛋白水解酶 OMA1 通过水解 OPA1 可以引起线粒体内膜的分裂。在 AKI 小鼠模型中，敲除 OMA1 基因可抑制 OPA1 的水解，阻止线粒体分裂以及肾小管上皮细胞损伤。从而对抗缺血性肾损伤，改善

肾功能。这些研究进一步证实了线粒体动力学与 AKI 的相关性，进一步探索 AKI 过程中线粒体动力学改变以及引起肾小管上皮细胞损伤的具体分子机制，有助于探索 AKI 的防治新策略。

2. 线粒体动力学与 DN

近年来，线粒体动力学与神经退行性病变、冠状动脉粥样硬化性心脏病（冠心病）等慢性病关系的研究取得了很大进展，但对线粒体动力学与 CKD 的关系却知之甚少。DN 是引起 ESRD 的主要原因，长期的高血糖可导致肾小球、肾小管以及肾间质的损伤，并最终引起 CRF[11]。线粒体动力学失衡产生大量的活性氧簇，大量的活性氧簇可产生各种应激反应，所产生的致炎作用可导致胰岛素信号转导降低，这可能是导致胰岛素抵抗的重要原因之一[12]。线粒体动力学平衡在胰岛素分泌以及 B 细胞形态及数量方面均起着重要作用。Liu 等[13]发现大黄酸可以抑制 ROS 产生，从而抑制 ROS-Drp1-线粒体分裂-细胞凋亡通路防止高糖诱导的 B 细胞凋亡。Zhang 等[14]发现，敲除小鼠胰岛 B 细胞 OPA1 基因后，胰岛 B 细胞线粒体呈碎片状，线粒体复合体Ⅳ数量和活性降低，最终导致三磷酸腺苷生成障碍，胰岛素分泌不足而引起血糖升高。以上实验表明，线粒体动力学紊乱可引起胰岛素抵抗、胰岛素分泌不足、胰岛 B 细胞凋亡，最终诱发 2 型糖尿病，维持线粒体动力学稳定可能是防止这一过程的有效途径。

除了线粒体动力学参与了 DN 的病理变化过程外，研究发现 DN 动物模型及 DN 患者肾皮质中存在线粒体碎片堆积，提示 DN 的病理变化过程中线粒体清除机制（线粒体自噬）也遭受损害[15]。DN 病理变化过程中线粒体自噬功能的改变及其对 DN 病理进展的影响尚需进一步验证。进一步探索 DN 发展过程中线粒体自噬功能变化及其对 DN 病理进展影响的具体分子机制，有可能发现 DN 治疗的新靶点。

3. 线粒体动力学与肾脏病防治新策略

Tang 等[16]对链脲霉素诱导的 DN 大鼠模型中肾脏细胞进行腺病毒介导的基因转染，使 Mfn2 高表达，与未进行转染的空白对照组大鼠相比，证实 Mfn2 高表达可以减轻糖尿病大鼠模型的肾损伤（如降低蛋白尿、减少活性氧簇聚集等）。Mfn2 高表达在 DN 患者中是否有同样作用还有待于进一步研究验证。Morigi 等[17]研究指出，在顺铂介导的小鼠 AKI 模型中，氧化应激损伤与线粒体损伤都与肾脏中的去乙酰化酶 3（SIRT3）水平降低有关，用磷酸腺苷活化蛋白激酶（AMPK）激动剂 5-氨基-4-咪唑甲酰胺核苷酸或者抗氧化剂乙酰左旋肉碱对实验小鼠进行预处理，恢复 SIRT3 的表达与活性，可以改善实验小鼠的肾脏功能，并且减轻小鼠的肾小管损伤，对敲除 SIRT3 基因组的小鼠进行预处理则无此作用。在体外培养的人类肾小管上皮细胞，经顺铂暴露后可导致 SIRT3 水平降低，进而导致线粒体分裂，恢复 SIRT3 的表达，可以修复顺铂介导的线粒体功能紊乱。以上研究表明，恢复和增强 SIRT3 的表达，可以稳定线粒体动力学，降低顺铂所致 AKI 风险。

Cereghetti 等[18]证实，细胞质中的钙离子浓度过高可引起钙依赖磷酸酶的激活从而直接激活 Drp1 上 637 位丝氨酸脱磷酸化，进一步引起 Drp1 激活并由细胞质向线粒体移位，最终导致线粒体的分裂。2 种不同的钙依赖磷酸酶抑制剂（环孢素和他克莫司），可以抑制 Drp1 的脱磷酸化作用从而阻止肾小管上皮细胞线粒体的分裂、细胞色素 C 的释放以及细胞凋亡[19]。因此，阻止 Drp1 脱磷酸化作用可减轻缺血-再灌注等引起的急性肾小管上皮细胞损伤。唐骅等[20]研究表明 DN 时体内升高的晚期糖基化终产物可能会导致大鼠肾小球内皮细胞（GEnC）线粒体功能障碍，引起活性氧簇产生增加，从而导致细胞间通透性增加，可能是 DN 时蛋白尿生成的机制之一，减少线粒体功能障碍引起的氧化应激损伤，可能成为发生 DN 时保护 GEnC 功能的有效途径之一。

4. 线粒体动力学与临床应用

何静等[21]通过建立线粒体 DNA（mtDNA）拷贝数的 SYBR Green I 实时定量 PCR 方法，检测局灶节段性肾小球硬化（FSGS）患者血清线粒体 DNA（mtDNA）和尿液微囊泡（MV）mtDNA 的变化，发现 FSGS 患者血清 mtDNA 水平均较健康对照组下降，且 FSGS 患者尿液中 MV mtDNA 含量高于健康对照组；实验还证实了体外嘌呤霉素氨基核苷刺激的足细胞分泌的 MV 中 mtDNA 下降，而且足细胞内 mtDNA 含量也下降。上述结果提示 mtDNA 可能是肾损伤的标志

物。虽然该实验存在样本含量较少、FSGS 尿液 MV 来源的 mtDNA 升高可能是由于患者尿液 MV 含量也升高引起等不足，但该研究建立的 mtDNA 拷贝数测定方法成本低廉、敏感度高、特异性强，为 mtDNA 检测用于临床诊断以及进一步完善相关研究奠定了基础。

邹礼乐等[22]通过建立缺氧-复氧（H/R）模型，将近曲肾小管上皮细胞（HK-2）随机分为对照组和 H/R 组，通过免疫组织化学染色检测发现，H/R 组 OPA1 表达减少而 Drp1 表达增加，提示新生儿 H/R 性肾损伤可能与线粒体动力学紊乱有关。胡语航等[23]对 H/R 模型的 HK-2 细胞进行白藜芦醇苷（PD）预处理，证实单纯 H/R 组细胞数量明显减少，PD 处理组 HK-2 细胞数量明显多于 H/R 组。提示 PD 对 H/R 诱导的肾小管上皮细胞损伤可能具有一定的保护作用，但其作用机制是否与肾小管上皮细胞线粒体动力学改变有关，尚需进一步研究。

三、结　语

通过对线粒体动力学以及线粒体动力学改变参与肾脏病理生理学过程的总结，我们可以推断，维持线粒体动力学的稳定也许可以成为保护肾损伤的新的研究方向，过去的研究主要集中在线粒体动力学与 AKI，线粒体动力学与 CKD 的相关性具有同样重要的研究价值。如前所述，在缺血与顺铂介导的 AKI 模型中，阻止线粒体分裂具有肾脏保护作用，然而在其他肾脏损伤的模型中同样的处理是否有效尚不清楚。越来越多的证据表明线粒体动力学在 AKI 与 CKD 的发病机制中都发挥着一定的作用，其具体的分子机制还有待于进一步的研究。通过对线粒体动力学与肾脏疾病研究的回顾，表明线粒体动力学调节将为肾脏疾病提供新的研究方向、药物作用靶点及肾脏保护方案，具有重要的理论及现实意义。

参 考 文 献

[1] Liesa M, Palacín M, Zorzano A. Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease. Physiol Rev, 2009, 9 (3): 799-845.

[2] Lackner LL, Nunnari JM. The molecular mechanism and cellular functions of mitochondrial division. Biochim Biophys Acta, 2009, 1792 (12): 1138-1144.

[3] Ishihara N, Nomura M, Jofuku A, Kato H, Suzuki SO, Masuda K, Otera H, Nakanishi Y, Nonaka I, Goto Y, Taguchi N, Morinaga H, Maeda M, Takayanagi R, Yokota S, Mihara K. Mitochondrial fission factor Drp1 is essential for embryonic development and synapse formation in mice. Nat Cell Biol, 2009, 11 (8): 958-966.

[4] Suzuki M, Neutzner A, Tjandra N, Youle RJ. Novel structure of the N terminus in yeast Fis1 correlates with a specialized function in mitochondrial fission. J Biol Chem, 2005, 280 (22): 21444-21452.

[5] Lee YJ, Jeong SY, Karbowski M, Smith CL, Youle RJ. Roles of the mammalian mitochondrial fission and fusion mediators Fis1, Drp1, and Opa1 in apoptosis. Mol Biol Cell, 2004, 15 (11): 5001-5011.

[6] Yoon Y, Galloway CA, Jhun BS, Yu T. Mitochondrial dynamics in diabetes. Antioxid Redox Signal, 2011, 14 (3): 439-457.

[7] Zorzano A, Liesa M, Palacín M. Role of mitochondrial dynamics proteins in the pathophysiology of obesity and type 2 diabetes. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41 (10): 1846-1854.

[8] Kao SH, Yen MY, Wang AG, Yeh YL, Lin AL. Changes in mitochondrial morphology and bioenergetics in human lymphoblastoid cells with four novel OPA1 mutations. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56 (4): 2269-2278.

[9] Brooks C, Wei Q, Cho SG, Dong Z. Regulation of mitochondrial dynamics in acute kidney injury in cell culture and rodent models. J Clin Invest, 2009, 119 (5): 1275-1285.

[10] Xiao X, Hu Y, Quirós PM, Wei Q, López-Otín C, Dong Z. OMA1 mediates OPA1 proteolysis and mitochondrial fragmentation in experimental models of ischemic kidney injury. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 306 (11): F1318-F1326.

[11] Kanwar YS, Sun L, Xie P, Liu FY, Chen S. A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. Annu Rev Pathol, 2011, 6: 395-423.

[12] Hahn WS, Kuzmicic J, Burrill JS, Donoghue MA, Foncea R, Jensen MD, Lavandero S, Arriaga EA, Bernlohr DA. Proinflammatory cytokines differentially regulate adipocyte mitochondrial metabolism, oxidative stress, and dynamics. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2014, 306 (9): E1033-E1045.

[13] Liu J, Chen Z, Zhang Y, Zhang M, Zhu X, Fan Y, Shi S, Zen K, Liu Z. Rhein protects pancreatic β-cells from dynamin-related protein-1-mediated mitochondrial fission and cell apoptosis under hyperglycemia. Diabetes, 2013, 62 (11): 3927-3935.

[14] Zhang Z, Wakabayashi N, Wakabayashi J, Tamura Y, Song WJ, Sereda S, Clerc P, Polster BM, Aja SM, Pletnikov MV, Kensler TW, Shirihai OS, Iijima M, Hussain MA, Sesaki H. The dynamin-related GTPase Opa1 is required for glucose-stimulated ATP production in pancreatic beta cells. Mol Biol Cell, 2011, 22 (13): 2235-2245.

[15] Higgins GC, Coughlan MT. Mitochondrial dysfunction and mitophagy: the beginning and end to diabetic nephropathy? Br J Pharmacol, 2014, 171 (8): 1917-1942.

[16] Tang WX, Wu WH, Zeng XX, Bo H, Huang SM. Early protective effect of mitofusion 2 overexpression in STZ-induced diabetic rat kidney. Endocrine, 2012, 41 (2): 236-247.

[17] Morigi M, Perico L, Rota C, Longaretti L, Conti S, Rottoli D, Novelli R, Remuzzi G, Benigni A. Sirtuin 3-dependent mitochondrial dynamic improvements protect against acute kidney injury. J Clin Invest, 2015, 125 (2): 715-726.

[18] Cereghetti GM, Stangherlin A, Martins de Brito O, Chang CR, Blackstone C, Bernardi P, Scorrano L. Dephosphorylation by calcineurin regulates translocation of Drp1 to mitochondria. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105 (41): 15803-15808.

[19] Cho SG, Du Q, Huang S, Dong Z. Drp1 dephosphorylation in ATP depletion-induced mitochondrial injury and tubular cell apoptosis. Am J Physiol Renal Physiol, 2010, 299 (1): F199-F206.

[20] 唐骅，李灿明，赖渭妍，饶嘉玲，叶增纯，娄探奇．线粒体功能障碍在晚期糖基化终产物致肾小球内皮细胞通透性增加中的作用机制．新医学，2015，46（3）：144-148.

[21] 何静，夏虹，张昌明，刘志红，施少林．线粒体 DNA 拷贝数检测方法的建立及在肾脏疾病诊断中的应用．肾脏病与透析病移植杂志，2014，23（4）：342-348.

[22] 邹礼乐，韩艺，徐福翠，雷小平．缺氧-复氧对肾小管上皮细胞内 DRP1 及 OPA1 表达的影响．中国妇幼保健，2012，27（17）：2655-2658.

[23] 胡语航，王兴勇，何素蓉，杨延芳，徐静．白藜芦醇苷对缺氧复氧 HK-2 细胞损伤保护作用的研究．第三军医大学学报，2008，30（22）：2120-2123.

（收稿日期：2015-11-21）

（本文编辑：林燕薇）