



## 线粒体超微结构及其调控机制的研究进展\*

黄国敏<sup>1,2,3,4)\*\*</sup> 王玉佩<sup>5)\*\*</sup> 孙超<sup>1,2,3,4)</sup> 张雪甜<sup>1,2,3,4)</sup> 张红<sup>1,2,3,4)\*\*\*</sup><sup>(1)</sup> 中国科学院大学近代物理研究所, 兰州 730000; <sup>(2)</sup> 中国科学院大学, 北京 100049;<sup>(3)</sup> 中国科学院重离子束辐射生物学重点实验室, 兰州 730000;<sup>(4)</sup> 甘肃省重离子辐射医学重点实验室, 兰州 730000; <sup>(5)</sup> 甘肃省妇幼保健院, 兰州 730000)

**摘要** 线粒体超微结构是用电子显微镜观察到的精细结构, 其可以根据不同能量需求和生理环境变化而变化, 对线粒体功能具有关键调节作用. 线粒体嵴结构是一种重要的线粒体超微结构, 对多种线粒体疾病产生影响. 因此, 研究线粒体超微结构的调节机制, 理解线粒体超微结构功能, 对研究线粒体疾病的发病机理及寻找相关疾病的治疗靶点具有重要指导意义. 本文详细介绍了线粒体嵴结构的主要调节机制, 重点关注线粒体超微结构组成成分、线粒体超微结构对线粒体功能的影响、线粒体超微结构与线粒体疾病关系方面的研究进展, 以期制定更有效的线粒体疾病治疗方案提供理论参考.

**关键词** 线粒体, 超微结构, 嵴连接, MICOS,  $F_1F_0$ -ATP酶  
**中图分类号** Q27, Q67

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2019.0142

线粒体是真核细胞中的产能细胞器, 主要功能是将有机物中储存的化学能转化为ATP, 同时参与细胞凋亡、维持钙离子稳态等重要生理过程. 自20世纪40年代能用电子显微镜观察细胞超微结构以来, 研究者们聚焦于线粒体超微结构的变化及其对线粒体功能的影响, 发现线粒体超微结构和功能紧密联系, 在多种线粒体疾病中其形态也有明显改变<sup>[1-3]</sup>, 表明线粒体超微结构可以影响线粒体功能, 并对线粒体疾病的发生发展起重要作用.

线粒体超微结构改变主要是嵴结构的数量和形状的改变. 嵴是线粒体大量功能蛋白的载体, 如氧化磷酸化相关蛋白、钙离子转运蛋白等. 超微结构可以根据不同的能量需求和生理环境变化而变化. 在蜻蜓的飞行肌肉中可以观察到嵴较密集的线粒体, 而在冬季饥饿的青蛙的肝脏中, 线粒体的嵴则比较稀疏<sup>[4]</sup>; 有学者研究衰老对后生动物线粒体的影响, 发现从小鼠的心脏、肝脏和肾脏中提取的线粒体超微结构存在显著差异, 这证明了线粒体超微结构有明显的组织依赖性<sup>[5]</sup>. 近年来对线粒体嵴的形态及功能研究逐渐增多, 已有研究发现MICOS (mitochondrial contact site and cristae organizing system) 复合物、视神经萎缩蛋白1

(optic atrophy 1, OPA1)、心磷脂等共同参与调控嵴的形态, 从而影响线粒体功能和多种线粒体疾病的发生<sup>[1, 6-8]</sup>. 本文综述了线粒体超微结构的调节机制, 探讨了超微结构对线粒体氧化磷酸化、细胞凋亡和钙稳态的影响, 探究了超微结构与线粒体相关疾病的关系, 有助于更好地理解线粒体超微结构与线粒体功能的关系, 为线粒体疾病的治疗提供新思路.

### 1 线粒体超微结构

线粒体的双层膜结构将线粒体分为外膜、膜间隙、内膜和线粒体基质四大部分(图1)<sup>[9]</sup>. 外膜厚度为6~7 nm, 其中蛋白质和脂质约各占50%. 外膜参与调控线粒体与内质网等细胞器以及细胞质之间的物质交换. 外膜和内膜之间的区域是膜间隙, 由于外膜上分布有孔蛋白构成的通道, 通透性很

\* 科技部国家重点研发计划“战略性国际科技创新合作”重点专项(SQ2018YFE020524)资助.

\*\* 并列第一作者.

\*\*\* 通讯联系人.

Tel: 0931-4969344, E-mail: zhangh@impcas.ac.cn

收稿日期: 2019-06-26, 接受日期: 2019-10-25

高, 所以膜间隙中的离子环境与胞质的几乎相同. 线粒体内膜分为两个区域, 一部分是靠近外膜的内边界膜, 另一部分是内膜向线粒体基质折叠形成大小和形状各异的凹陷结构, 称之为嵴. 内膜富含心磷脂, 缺乏胆固醇, 蛋白质/脂质的比值大, 因此内膜通透性低. 内边界膜和嵴含有不同蛋白质成分, 内边界膜上有丰富的蛋白转位酶, 可以将核基因编码蛋白导入线粒体, 而嵴中富集呼吸链复合体和 $F_1F_0$ -ATP酶, 这两种内膜结构域及其中的蛋白质不是完全分隔开的, 可以根据正常生理需要进行动态交换, 交换过程受不同底物蛋白调节<sup>[10]</sup>.

线粒体嵴是重要的线粒体超微结构. 如图1所

示, 嵴与内边界膜的连接处是一种狭窄的颈状结构, 称为嵴连接 (crista junction)<sup>[9]</sup>. 嵴连接处的内膜从正、负两个方向几乎以 $90^\circ$ 向线粒体基质弯曲, 其“颈口”的直径约28 nm. 研究证实嵴连接的形成和维持需要保守的MICOS复合物<sup>[11]</sup>. Harner等<sup>[12]</sup>研究酵母的线粒体超微结构, 发现了形成线粒体嵴结构的两种可能途径, 一种是两个边界内膜薄片在线粒体融合后转化为单个片状嵴; 另一种是在新合成的蛋白质和脂质驱动下, 边界内膜生长成为管状嵴. 这两种途径都需要 $F_1F_0$ -ATP酶和MICOS复合物参与, 其中合成片状嵴还需要一类线粒体内膜上的关键融合调控蛋白——OPA1介导内膜融合.

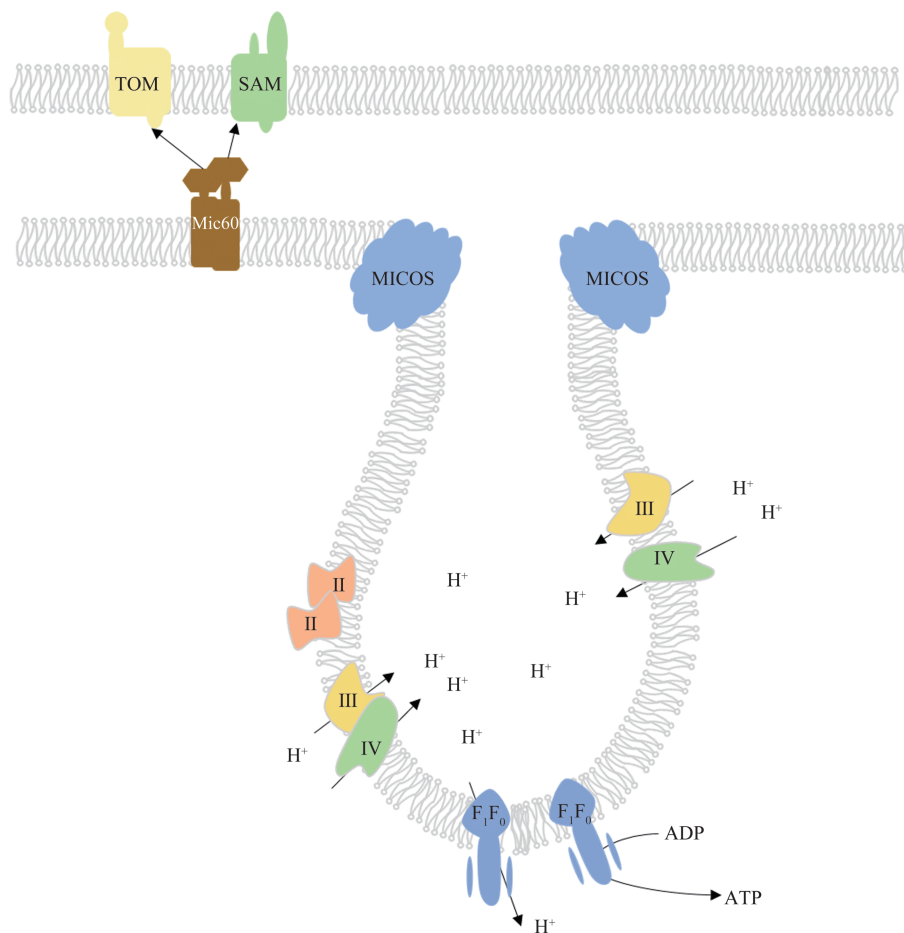


Fig. 1 Crista junction in yeast cells<sup>[9]</sup>

图1 酵母细胞中的线粒体嵴连接<sup>[9]</sup>

线粒体内膜分为内边界膜和嵴两个区域. MICOS富集在内边界膜和嵴的连接处. Mic60与转位酶TOM和SAM相互作用形成接触位点. 呼吸链复合体存在于嵴上.  $F_1F_0$ -ATP酶二聚体促进嵴边缘形成.

## 2 线粒体超微结构对线粒体功能的影响

### 2.1 嵴结构影响线粒体氧化磷酸化

线粒体的一个重要功能是通过氧化磷酸化产生ATP. 储存在营养物质(碳水化合物、脂肪等)中的化学能通过线粒体内膜上的电子传递链复合体(ETC复合体)转化为电化学梯度,  $F_1F_0$ -ATP酶利用电化学梯度将ADP转化为ATP<sup>[13]</sup>. 在氧化磷酸化过程中, 嵴结构不仅可以直接影响呼吸链复合体结构和 $F_1F_0$ -ATP酶定位进而影响线粒体氧化磷酸化作用, 还可以通过心磷脂、OPA1等嵴结构调节因子对线粒体氧化磷酸化作用产生间接影响.

ETC复合体(复合体I、II、III和IV)是嵌在嵴上的离散实体, 邻近的特定复合体可以相互连接形成超复合体, 超复合体的组装受嵴结构形态影响<sup>[14]</sup>. 在哺乳动物中, 含量最高的超复合体由复合体I、复合体III二聚体和1~2个复合体IV组成; 在酵母中主要存在两类超复合体, 一类由复合体III二聚体与一个复合体IV结合而成, 另一类由复合体III二聚体与2个复合体IV结合而成<sup>[15]</sup>.  $F_1F_0$ -ATP酶在嵴周围形成二聚体带, 当嵴形态改变,  $F_1F_0$ -ATP酶的位置会发生变化, 超复合体也随之改变或解体<sup>[14]</sup>, 从而影响ATP产生. 超复合体中复合体I、复合体III二聚体和复合体IV之间存在明显间隙, 这些间隙被心磷脂分子占据, 增强了呼吸体的稳定性<sup>[16]</sup>. OPA1也对超复合体的稳定性产生影响, 有学者利用Cre-LoxP重组酶系统在C57BL6/J小鼠的胚胎干细胞的Opa1基因(Opa1<sup>flx/flx</sup>)中插入loxP位点, 构建出不影响线粒体脱氧核糖核苷酸含量和翻译水平的OPA1消融(ablation)模型, 再将此模型显微注射到C57BL6/J囊胚中, 培育出Opa1<sup>flx/flx</sup>小鼠, 最后用纯合子Opa1<sup>flx/flx</sup> 7周龄雄性小鼠隔膜分离的成纤维细胞进行研究<sup>[14]</sup>. 用腺病毒转染Cre重组酶, 24 h后, OPA1完全脱落, 观察发现嵴结构异常, 超复合体减少; 在不产生毒性的剂量范围内过表达OPA1, 发现嵴结构更加致密, 组装超复合体的能力增强<sup>[14]</sup>.

### 2.2 嵴结构与细胞凋亡

细胞色素c(Cyt c)释放时嵴结构发生变化, 从而对内源性细胞凋亡产生影响. 最初, 研究者认为线粒体外膜透化过程直接导致Cyt c释放, 但随着对线粒体超微结构的深入研究, 发现大约有85%的Cyt c存在于嵴上. 若线粒体外膜透化直接导致Cyt c释放, 那么Cyt c可以自由通过嵴结构, 不可

能稳定地存在于嵴结构上, 与大部分的Cyt c在嵴结构上稳定存在不符, 因此更多的研究支持释放Cyt c需要线粒体嵴结构发生改变这一观点<sup>[17]</sup>. 目前, Cyt c释放过程中嵴形态变化的具体形式存在争议. 有研究者发现, 在Cyt c释放过程中出现嵴重塑和嵴连接扩大(从18 nm扩增至56 nm)现象, 并指出这是由Bcl-2家族蛋白中的促凋亡成员Bid导致的, 区别于线粒体外膜透化过程<sup>[18]</sup>; 但Yamaguchi等<sup>[19]</sup>发现当嵴连接直径减半时Cyt c也能释放; Sun等<sup>[20]</sup>发现, Cyt c释放可以发生在嵴重塑之前, 而线粒体肿胀只发生在凋亡后期, 即在Cyt c释放和线粒体膜电位消失之后, 与嵴连接扩大导致Cyt c异常释放的观点相反. 上述研究的共同点是在细胞凋亡过程中嵴形态发生了改变.

另有研究表明, OPA1是一种把嵴连接在一起的“胶水”, 可以阻止Cyt c释放<sup>[17]</sup>; Yamaguchi等<sup>[19]</sup>在后续研究中也发现, OPA1寡聚物确实可以阻断嵴中Cyt c释放, 若将OPA1寡聚物解体, 则会加速释放Cyt c. 所以嵴参与Cyt c释放过程, 从而影响细胞凋亡.

### 2.3 超微结构影响钙离子稳态

线粒体是一种钙离子缓冲细胞器, 主要通过内膜上的线粒体钙单向转运体(mitochondrial calcium uniporter, MCU)、钠钙交换体( $Na^+/Ca^{2+}$  exchanger, NCLX)摄取和释放钙离子, 从而维持钙离子浓度稳定. MCU和NCLX是超微结构的一部分, 因此线粒体超微结构与钙离子稳态密切相关.

线粒体外的钙离子通过线粒体外膜上的电压依赖性阴离子通道1(voltage-dependent anion channel 1)进入线粒体, 由于线粒体外膜通透性高, 钙离子在膜间隙中的浓度与胞质中的浓度相当. 钙离子主要依赖线粒体内膜上的MCU进入线粒体基质. MCU复合体主要包含MCU、成孔亚基MCUb、调节因子EMRE和钙离子摄取蛋白MICU1、MICU2、MICU3以及MCU调节剂MCUR1. 静息状态下线粒体基质中的钙离子浓度(约100 nmol/L)与细胞质中的相差不大, 此时MCU处于关闭状态; 当细胞质中钙离子浓度升高(>300 nmol/L), MCU迅速被激活, 钙离子通过MCU转运到线粒体基质中, 有时甚至可以对抗钙离子浓度梯度进行转运<sup>[21]</sup>. 在哺乳动物细胞中MCUb对MCU活性起负调节作用<sup>[22]</sup>, 但在其他生物(如克氏锥虫)中, MCUb的直接同源物是钙离

子的传导亚基, 其过表达增强线粒体内膜对钙离子的摄取<sup>[23]</sup>. MICU1、MICU2和MICU3是MCU正向调节剂, 直接或间接地刺激MCU通道开放<sup>[24-25]</sup>. EMRE是一种MCU调节蛋白, 当其减少时, MCU与MICU1-MICU2二聚体的结合明显降低<sup>[22]</sup>. 近期研究发现, 在敲除MCUR1基因的小鼠模型中, 细胞中MCU复合物显著减少, 间接降低了线粒体钙离子的摄取率, 表明MCUR1参与MCU通道组装并影响MCU功能; MCUR1与MCU和EMRE结合, 对MCU寡聚过程及寡聚后的稳定性起作用<sup>[26]</sup>. 钙离子进入线粒体基质还与嵴结构上的电子传递链有关——利用呼吸链产生的质子梯度进入线粒体基质, 同时钙离子又可以调节三羧酸循环, 通过刺激钙离子敏感的脱氢酶氧化磷酸化, 激活NADH氧化酶来促进ATP和活性氧生成, 对自身进入线粒体过程有正反馈调节作用<sup>[27-28]</sup>.

线粒体内膜主要依靠NCLX释放钙离子. NCLX存在于线粒体嵴上<sup>[29]</sup>, 每释放一个钙离子需要交换3个钠离子. 抑制成年小鼠的NCLX表达会出现严重心肌功能障碍和爆发性心力衰竭——NCLX被抑制后, 钙离子浓度迅速上升促进超氧化物生成, 超氧化物和钙离子诱导线粒体通透性转变孔开放, 导致细胞坏死, 而在小鼠心脏中过表达NCLX可以增强钙离子外排, 保护心肌细胞, 防止内膜通透性转变<sup>[30]</sup>.

### 3 线粒体超微结构的调节机制

#### 3.1 $F_1F_0$ -ATP酶对嵴的调节作用

$F_1F_0$ -ATP酶寡聚体在嵴形成过程中起重要作用.  $F_1F_0$ -ATP酶由两部分组成——亲水部分 $F_1$ 和疏水部分 $F_0$ . 亚基e (Atp21)和亚基g (Atp20)包含在 $F_0$ 部分中, 它们参与形成 $F_1F_0$ -ATP酶寡聚体, 若编码亚基e和g的任意一个基因被敲除,  $F_1F_0$ -ATP酶将不能结合成寡聚物<sup>[31]</sup>; 用电子显微镜观察敲除了亚基e和g相关基因的细胞, 发现线粒体变圆, 嵴贯穿线粒体基质形成板层结构, 围绕在嵴周边的细胞器形态也发生明显变化, 整个线粒体形状类似于“对剖的洋葱状”<sup>[32]</sup>. 在HeLa细胞中用shRNA方法将亚基e和亚基g下调80%, 观察到线粒体中内膜紊乱, 存在弓状或纵向嵴, 同时检测到 $F_1F_0$ -ATP酶寡聚体不稳定<sup>[33]</sup>.

低温电子断层扫描显示,  $F_1F_0$ -ATP酶复合体沿着嵴顶端和边缘形成二聚体带. 在二聚体中,  $F_1$ 部分的距离是一定的, 2个单体之间形成一个固定角

度( $>70^\circ$ ), 这种固有角度被认为是嵴形成局部弯曲的原因, 即 $F_1F_0$ -ATP酶促使内膜弯曲折叠形成嵴尖端和嵴边缘<sup>[6]</sup>. 关于膜曲率与 $F_1F_0$ -ATP酶二聚体相互作用的原理, 有研究者解释称 $F_1F_0$ -ATP酶是质子的“接收器”, 不断接收质子, 导致嵴周围的质子浓度高于膜间的其余部分, 产生沿线粒体内膜的pH梯度从而促使膜弯曲<sup>[34]</sup>.  $F_1F_0$ -ATP酶也可以通过参与形成线粒体通透性转换孔来对嵴产生影响, 但参与形成转换孔的具体结构还有待明确<sup>[35]</sup>.

#### 3.2 OPA1对嵴的调节作用

在哺乳动物中, OPA1介导线粒体内膜融合, 对形成嵴结构和维持嵴形态至关重要. OPA1位于膜间隙, 其中一部分锚定在线粒体内膜上, 它主要集中在嵴中部, 向嵴连接和嵴尖端方向逐渐减少<sup>[36]</sup>. 人类中的OPA1有8种亚型, 每种亚型又被蛋白酶水解成膜锚定的长型OPA1 (L-OPA1)和可溶于膜间隙的短型OPA1 (S-OPA1). 正常生理环境下L-OPA1和S-OPA1几乎等量存在(随环境改变有波动), 但不同OPA1亚型与特定线粒体功能相关, 学者们最初认为L-OPA1促进内膜融合并维持嵴形态, S-OPA1只能起到辅助作用<sup>[37]</sup>, 但有研究者得出了不同结论, 他们去除L-OPA1, 只留下S-OPA1进行研究, 发现S-OPA1也可以维持嵴形态和线粒体氧化磷酸化作用<sup>[38]</sup>. 另有研究表明, L-OPA1与心磷脂相互作用介导线粒体融合, 如果L-OPA1与S-OPA1混合存在则效率更高<sup>[39]</sup>. 目前已经确定OPA1寡聚体促进组装呼吸链超复合体并维持其稳定, 过表达OPA1促进嵴收紧, 增强线粒体呼吸功能<sup>[14]</sup>.

#### 3.3 MICOS复合体对嵴的调节作用

MICOS对嵴结构形成和维持具有重要作用, 它是嵴连接最重要的组成物. MICOS在真核细胞中进化保守, 已研究出其在真菌中至少有6种亚基: Mic60、Mic10、Mic12、Mic19、Mic26和Mic27, 在哺乳动物中有7种亚基: Mic60、Mic10、Mic19、Mic25、Mic26、Mic27和Mic13 (QIL1). 除Mic26外, 任何组分缺失都会造成嵴连接损坏, 导致从内边界膜分离出的大量片状嵴堆积<sup>[40]</sup>. Mic19和Mic25是位于膜间隙的外周内膜蛋白, Mic19结构中含有二硫键, 以还原形式或氧化形式存在, 已有研究表明, Mic19能促进2个MICOS子复合物相互作用, 处于氧化态时促进作用更明显<sup>[41]</sup>, 敲低Mic25导致嵴完全消失、ATP水平降低和线粒体呼吸功能减弱<sup>[1]</sup>.

MICOS 主要有两个子复合体, 分别以 Mic60 和 Mic10 为核心, 这两个复合体对维持 MICOS 的稳定和功能起关键调节作用. 哺乳动物的 Mic60、Mic19 和 Mic25 组成一类子复合体. Mic60 在嵴连接处富集, 与蛋白转位酶 TOM 和 SAM 相互作用, 在内外膜之间形成接触位点<sup>[42]</sup>. Mic60 具有一个卷曲螺旋结构域和一个保守的 C 端结构域, 当 C 端结构域缺失时, 嵴从内膜上脱离<sup>[43]</sup>, 并且其含量高低影响  $F_1F_0$ -ATP 酶的寡聚态, 说明 Mic60 与  $F_1F_0$ -ATP 酶寡聚物在调控嵴形态中共同发挥作用<sup>[44]</sup>. 当 Mic60 缺失时, 其伴侣蛋白 Mic19 不能稳定表达, 导致 MICOS 复合物结构不稳定<sup>[45]</sup>, 从而影响嵴结构. Mic10、Mic12/QIL1、Mic26 和 Mic27 组成另一类子复合体, 核心组分 Mic10 由两个跨膜片段组成, 这两个片段都含有保守的甘氨酸序列, 能驱动 Mic10 形成大的寡聚体<sup>[46]</sup>. 在酵母中过表达 Mic10 导致酵母线粒体嵴连接和嵴膨胀, 用纯化的 Mic10 重组成蛋白脂质体, 能在体外诱导膜弯曲, 促进管状膜结构形成<sup>[47]</sup>, 所以推测 Mic10 在形成狭窄颈状嵴连接过程中起作用.

### 3.4 心磷脂对嵴的调节作用

心磷脂是一种脂质, 占线粒体内膜磷脂总量的 10%~15%. 每分子心磷脂由 1 个甘油基团和 2 个磷脂基组成, 即 1 个极性头部基团连接 4 个酯化脂肪酰基链, 形成锥形立体结构. 心磷脂在嵴中不对称分布使膜弯曲, 而线粒体内膜需要弯曲来增大表面积以容纳大量心磷脂<sup>[48]</sup>. Khalifat 等<sup>[49]</sup> 在研究 pH 梯度驱动体外膜系统形成嵴状结构过程中发现, 若构建的体外膜系统中缺少心磷脂, 不会出现嵴状结构, 证明心磷脂在膜形成嵴状结构过程中起作用; Ban 等<sup>[50]</sup> 也报道称, 心磷脂可以与 S-OPA1 结合, 促进嵴管状部分的膜延伸.

心磷脂还对嵴上复合体 III 和复合体 IV 的稳定性起调节作用. 在酵母线粒体中, 对纯化的复合体 III 或 IV 二聚体进行磷脂定量分析, 发现其中含有约 50 个心磷脂分子<sup>[51]</sup>, 若复合体 III 的心磷脂结合位点突变会导致复合体 III 或 IV 二聚体消失<sup>[52]</sup>. 复合体 III 和 IV 在体外重组为蛋白脂质体时需要加入心磷脂来形成稳定的复合体 III 或 IV 二聚体<sup>[53]</sup>. 因此心磷脂可以直接影响嵴形态, 也可以通过影响 ETC 复合体对嵴结构产生间接影响.

## 4 超微结构与线粒体疾病

线粒体超微结构影响线粒体功能, 与线粒体疾

病密切相关, 在大量线粒体疾病患者中发现其线粒体超微结构改变. 参与调控嵴结构的因子如心磷脂、OPA1 异常可导致 Barth 综合征、显性视神经萎缩 (DOA) 等相关疾病, 这些疾病是可遗传的. 随着对线粒体结构和功能研究的不断推进和细化, 线粒体超微结构及其作用受到关注, 已有众多研究者尝试从超微结构着手, 理解这些疾病的发病机理和寻找治疗相关疾病的方法.

### 4.1 Barth 综合征与线粒体超微结构

线粒体嵴通过心磷脂间接参与 Barth 综合征的发生. 在 Barth 患者的电镜检查中发现其线粒体嵴形态异常, 且呼吸功能减弱<sup>[54]</sup>; 研究患有 Barth 综合征的不同生物模型, 均观察到其线粒体超微结构异常、嵴排列紊乱、线粒体内膜异常堆积等现象<sup>[2, 55-56]</sup>; 有学者探究紊乱的原因, 发现心磷脂与 MICOS 复合物相互作用, 心磷脂通过损害 MICOS 功能进而改变线粒体超微结构<sup>[57]</sup>.

Barth 综合征病发的主要诱因之一是心磷脂的合成过程受到干扰. 心磷脂合成过程高度保守并且局限于线粒体膜, 新合成的心磷脂的酰基链通过一系列脱酰基化和酰基化反应 (饱和酰基链被不饱和脂肪酰基链取代) 进行重构, 逐渐形成成熟的心磷脂. 心磷脂与 Barth 发病机制密切相关, 并在临床诊断中起重要作用. 在临床上, Barth 常表现为心脏病, 利用心磷脂单体/总心磷脂的比值可以对病情的严重程度进行准确的判断, 比值越高临床表现越严重<sup>[58]</sup>. 经研究发现, Barth 患者的线粒体 tafazzin (一种酰基转移酶) 基因缺陷, 导致心磷脂单体含量升高, 总心磷脂和重构心磷脂含量下降, 所以心磷脂单体/总心磷脂的比值升高<sup>[59]</sup>. 同时心磷脂又是嵴的重要调节因子, 当心磷脂出现异常, 线粒体嵴结构随之异常. 目前还没有任何上市的药物可以治疗 Barth 综合征, 但心磷脂单体/总心磷脂的比值是一种可靠的 Barth 诊断指标, 可以对 Barth 患者的病情作准确的判断, 所以从研究线粒体膜磷脂和超微结构方向寻找 Barth 治疗方法不失为一种有效途径.

### 4.2 帕金森病与线粒体超微结构

帕金森病是常见的神经退行性疾病, 主要病理改变是中脑黑质多巴胺能神经元变性死亡, 纹状体多巴胺含量显著减少, 黑质残存神经元胞质中出现路易小体 (Lewy body). PINK1、Parkin 等相关基因突变会引发帕金森病. PINK1 对建立线粒体嵴连接以及多巴胺能神经元在体内存活起作用<sup>[7]</sup>,

PINK1 基因突变降低线粒体复合体I的活性<sup>[60]</sup>. 已有研究证明, 抑制线粒体呼吸链复合体I可导致黑纹状体变性和帕金森病, 帕金森患者的额叶皮质匀浆中的复合体I活性降低<sup>[61]</sup>. Mic60 与 PINK1 相互作用也证实帕金森病与线粒体超微结构有关——PINK1 通过磷酸化 Mic60 来稳定 Mic60 寡聚体, 对稳定嵴连接和嵴结构产生促进作用, 在缺失 PINK1 的果蝇中过表达 Mic60 可以改善果蝇的行为缺陷, 阻止其多巴胺能神经元变性, 防止帕金森病发病或阻止病情进一步恶化<sup>[7]</sup>.

营养物质在利用线粒体氧化磷酸化产生 ATP 过程中, 与碳水化合物代谢相比, 脂肪和蛋白质对复合体I的依赖较少, 因此现在尝试用生酮饮食干预治疗帕金森病. 在一些临床案例中发现生酮饮食联合常规药物治疗对控制帕金森病临床症状、延缓病情发展有明显的效果, 可以提高患者的生活质量, 具有较大的临床运用潜力<sup>[62]</sup>. 线粒体呼吸链复合体和 Mic60 等在帕金森病发病机制中起重要作用, 生酮饮食也是从弥补复合体I损伤的角度出发治疗帕金森病, 因此有望从线粒体超微结构研究中找到干预治疗帕金森病的方法.

### 4.3 常染色体视神经萎缩 (DOA) 与线粒体超微结构

常染色体视神经萎缩 (DOA) 是一种神经性眼部疾病, 通常在生命体幼年发病, 其病理特征是视神经双侧变性致视神经衰竭. 检测患者的单核细胞发现, 线粒体形态异常、嵴结构紊乱<sup>[3]</sup>. 临床发现大多 DOA 的病因是 OPA1 突变<sup>[63]</sup>. OPA1 是第一个被发现的 DOA 发病位点, 也是最主要的位点, 其突变引起的 DOA 发病率至少占到 75%<sup>[64]</sup>. 在 OPA1 引起的病变中, 27% 是错义突变、27% 是剪接突变、23.5% 是移位、16.5% 是无意义、6% 是删除或异常复制. 但 OPA1 不同突变类型与疾病严重程度无关, 因为 OPA1 基因突变后, 其转录的 mRNA 被降解, OPA1 蛋白含量随之减少 50%<sup>[65]</sup>. OPA1 突变破坏线粒体呼吸链复合体的稳定性, 导致活性氧水平升高, ATP 合成总量减少<sup>[8]</sup>, 进一步促进 DOA 病发.

近年来, 在临床中使用泛醌类药物治疗 DOA. 艾地苯醌 (idebenone) 是一种泛醌类药物, 可以减少 ROS 产生, 控制细胞氧化损伤, 在线粒体氧化磷酸化过程中绕过受影响的复合体I, 将电子直接运送到复合体III. 观察使用艾地苯醌治疗后的患者, 发现其病情得到缓解<sup>[66]</sup>. 泛醌类药物是从线

粒体呼吸链着手进行治疗, 从研究线粒体超微结构着手有利于提高治疗效果. OPA1 是 DOA 的主要发病位点, 也是线粒体超微结构的主要调节因子, 因此研究线粒体超微结构与功能可以对寻找治疗 DOA 的方案提供有力帮助.

## 5 总 结

线粒体超微结构是高度动态的, 在不同外界环境刺激下, 线粒体嵴等超微结构发生改变. 改变过程由  $F_1F_0$ -ATP 酶、MICOS 复合物等多种机制共同调节. 超微结构改变使线粒体氧化磷酸化作用、钙稳态和线粒体介导的细胞凋亡发生变化, 导致线粒体功能障碍甚至引发多种线粒体疾病.

目前对于很多线粒体疾病, 人们还不清楚其病发是否由线粒体超微结构变化导致, 但线粒体疾病患者的单核细胞中确实存在线粒体超微结构改变现象, 并且在疾病发生过程中有许多超微结构的调节因子如心磷脂、OPA1 等发生变化, 进而影响线粒体功能, 促进疾病发生. 因此研究线粒体超微结构的调节机制, 理解线粒体超微结构的功能对阐明线粒体疾病发病的机理具有重要作用. 从研究线粒体超微结构角度去寻找弥补线粒体功能障碍导致的缺陷的办法, 能为制定更多、更有效的线粒体疾病治疗方案提供帮助.

## 参 考 文 献

- [1] Ding C, Wu Z, Huang L, *et al.* Mitofilin and CHCHD6 physically interact with Sam50 to sustain cristae structure. *Scientific Reports*, 2015, **5**:16064
- [2] Xu Y, Condell M, Plesken H, *et al.* A Drosophila model of Barth syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(31): 11584-11588
- [3] Gonzalez F, D'aurelio M, Boutant M, *et al.* Barth syndrome: cellular compensation of mitochondrial dysfunction and apoptosis inhibition due to changes in cardiolipin remodeling linked to tafazzin (TAZ) gene mutation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013, **1832**(8): 1194-1206
- [4] Ghadially F N. *Ultrastructural Pathology of the Cell and Matrix*. 3rd Ed. London: Elsevier Ltd, 1975
- [5] Brandt T, Mourier A, Tain L S, *et al.* Changes of mitochondrial ultrastructure and function during ageing in mice and Drosophila. *eLife*, 2017, **6**: pii e24662
- [6] Dudkina N V, Sunderhaus S, Braun H P, *et al.* Characterization of dimeric ATP synthase and cristae membrane ultrastructure from *Saccharomyces* and *Polytomella* mitochondria. *FEBS Letters*, 2006, **580**(14): 3427-3432
- [7] Tsai P I, Lin C H, Hsieh C H, *et al.* PINK1 phosphorylates MIC60/mitofilin to control structural plasticity of mitochondrial Crista

- junctions. *Molecular Cell*, 2018, **69**(5): 744-756
- [8] Zanna C, Ghelli A, Porcelli A M, *et al.* OPA1 mutations associated with dominant optic atrophy impair oxidative phosphorylation and mitochondrial fusion. *Brain*, 2008, **131**(Pt2): 352-367
- [9] Rampelt H, Zerbes R M, Van Der Laan M, *et al.* Role of the mitochondrial contact site and cristae organizing system in membrane architecture and dynamics. *Biochimica Biophysica Acta Molecular Cell Research*, 2017, **1864**(4): 737-746
- [10] Stoldt S, Wenzel D, Hildenbeutel M, *et al.* The inner-mitochondrial distribution of Oxa1 depends on the growth conditions and on the availability of substrates. *Molecular Biology of the Cell*, 2012, **23**(12): 2292-2301
- [11] John G B, Shang Y, Li L, *et al.* The mitochondrial inner membrane protein mitofilin controls cristae morphology. *Molecular Biology of the Cell*, 2005, **16**(3): 1543-1554
- [12] Harner M E, Unger A K, Geerts W J, *et al.* An evidence based hypothesis on the existence of two pathways of mitochondrial crista formation. *eLife*, 2016, 5: pii: e18853
- [13] Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature*, 1961, **191**:144-148
- [14] Cogliati S, Frezza C, Soriano M E, *et al.* Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency. *Cell*, 2013, **155**(1): 160-171
- [15] Schagger H, Pfeiffer K. Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria. *The EMBO J*, 2000, **19**(8): 1777-1783
- [16] Wu M, Gu J, Guo R, *et al.* Structure of mammalian respiratory supercomplex I1III2IV1. *Cell*, 2016, **167**(6): 1598-1609
- [17] Frezza C, Cipolat S, Martins De Brito O, *et al.* OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion. *Cell*, 2006, **126**(1): 177-189
- [18] Scorrano L, Ashiya M, Buttle K, *et al.* A distinct pathway remodels mitochondrial cristae and mobilizes cytochrome c during apoptosis. *Developmental Cell*, 2002, **2**(1): 55-67
- [19] Yamaguchi R, Lartigue L, Perkins G, *et al.* Opa1-mediated cristae opening is Bax/Bak and BH3 dependent, required for apoptosis, and independent of Bak oligomerization. *Molecular Cell*, 2008, **31**(4): 557-569
- [20] Sun M G, Williams J, Munoz-Pinedo C, *et al.* Correlated three-dimensional light and electron microscopy reveals transformation of mitochondria during apoptosis. *Nature Cell Biology*, 2007, **9**(9): 1057-1065
- [21] Marchi S, Pinton P. The mitochondrial calcium uniporter complex: molecular components, structure and physiopathological implications. *The Journal of Physiology*, 2014, **592**(5): 829-839
- [22] Raffaello A, De Stefani D, Sabbadin D, *et al.* The mitochondrial calcium uniporter is a multimer that can include a dominant-negative pore-forming subunit. *EMBO J*, 2013, **32**(17): 2362-2376
- [23] Chiurillo M A, Lander N, Bertolini M S, *et al.* Different roles of mitochondrial calcium uniporter complex subunits in growth and infectivity of *Trypanosoma cruzi*. *mBio*, 2017, **8**(3): pii: e00574-17
- [24] Patron M, Checchetto V, Raffaello A, *et al.* MICU1 and MICU2 finely tune the mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uniporter by exerting opposite effects on MCU activity. *Molecular Cell*, 2014, **53**(5): 726-737
- [25] Patron M, Granatiero V, Espino J, *et al.* MICU3 is a tissue-specific enhancer of mitochondrial calcium uptake. *Cell Death and Differentiation*, 2019, **26**(1): 179-195
- [26] Dong Z, Shanmughapriya S, Tomar D, *et al.* Mitochondrial Ca(2+) uniporter is a mitochondrial luminal redox sensor that augments mcu channel activity. *Molecular Cell*, 2017, **65**(6): 1014-1028
- [27] Jouaville L S, Pinton P, Bastianutto C, *et al.* Regulation of mitochondrial ATP synthesis by calcium: evidence for a long-term metabolic priming. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**(24): 13807-13812
- [28] De Stefani D, Rizzuto R, Pozzan T. Enjoy the trip: calcium in mitochondria back and forth. *Annual Review of Biochemistry*, 2016, **85**:161-192
- [29] Palty R, Silverman W F, Hershinkel M, *et al.* NCLX is an essential component of mitochondrial Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(1): 436-441
- [30] Luongo T S, Lambert J P, Gross P, *et al.* The mitochondrial Na(+)/Ca(2+) exchanger is essential for Ca(2+) homeostasis and viability. *Nature*, 2017, **545**(7652): 93-97
- [31] Arnold I, Pfeiffer K, Neupert W, *et al.* Yeast mitochondrial F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP synthase exists as a dimer: identification of three dimer-specific subunits. *EMBO J*, 1998, **17**(24): 7170-7178
- [32] Velours J, Dautant A, Salin B, *et al.* Mitochondrial F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP synthase and organellar internal architecture. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2009, **41**(10): 1783-1789
- [33] Habersetzer J, Larrieu I, Priault M, *et al.* Human F<sub>1</sub>F<sub>0</sub> ATP synthase, mitochondrial ultrastructure and OXPHOS impairment: a (super-)complex matter?. *PloS One*, 2013, **8**(10): e75429
- [34] Davies K M, Strauss M, Daum B, *et al.* Macromolecular organization of ATP synthase and complex I in whole mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(34): 14121-14126
- [35] He J, Carroll J, Ding S, *et al.* Permeability transition in human mitochondria persists in the absence of peripheral stalk subunits of ATP synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(34): 9086-9091
- [36] Barrera M, Koob S, Dikov D, *et al.* OPA1 functionally interacts with MIC60 but is dispensable for crista junction formation. *FEBS Letters*, 2016, **590**(19): 3309-3322
- [37] Duvezin-Caubet S, Jagasia R, Wagener J, *et al.* Proteolytic processing of OPA1 links mitochondrial dysfunction to alterations in mitochondrial morphology. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, **281**(49): 37972-37979
- [38] Lee H, Smith S B, Yoon Y. The short variant of the mitochondrial dynamin OPA1 maintains mitochondrial energetics and cristae structure. *The Journal of Biological Chemistry*, 2017, **292**(17): 7115-7130
- [39] Ban T, Ishihara T, Kohno H, *et al.* Molecular basis of selective mitochondrial fusion by heterotypic action between OPA1 and

- cardiolipin. *Nature Cell Biology*, 2017, **19**(7): 856-863
- [40] Harner M, Korner C, Walther D, *et al.* The mitochondrial contact site complex, a determinant of mitochondrial architecture. *EMBO J*, 2011, **30**(21): 4356-4370
- [41] Sakowska P, Jans D C, Mohanraj K, *et al.* The oxidation status of Mic19 regulates MICOS assembly. *Molecular and Cellular Biology*, 2015, **35**(24): 4222-4237
- [42] Bohnert M, Wenz L S, Zerbes R M, *et al.* Role of mitochondrial inner membrane organizing system in protein biogenesis of the mitochondrial outer membrane. *Molecular Biology of the Cell*, 2012, **23**(20): 3948-3956
- [43] Zerbes R M, Bohnert M, Stroud D A, *et al.* Role of MINOS in mitochondrial membrane architecture: cristae morphology and outer membrane interactions differentially depend on mitofilin domains. *Journal of Molecular Biology*, 2012, **422**(2): 183-191
- [44] Rabl R, Soubannier V, Scholz R, *et al.* Formation of cristae and crista junctions in mitochondria depends on antagonism between Fcjl and Su e/g. *The Journal of Cell Biology*, 2009, **185**(6): 1047-1063
- [45] Li H, Ruan Y, Zhang K, *et al.* Mic60/Mitofilin determines MICOS assembly essential for mitochondrial dynamics and mtDNA nucleoid organization. *Cell Death and Differentiation*, 2016, **23**(3): 380-392
- [46] Bohnert M, Zerbes R M, Davies K M, *et al.* Central role of Mic10 in the mitochondrial contact site and cristae organizing system. *Cell Metabolism*, 2015, **21**(5): 747-755
- [47] Barbot M, Jans D C, Schulz C, *et al.* Mic10 oligomerizes to bend mitochondrial inner membranes at cristae junctions. *Cell Metabolism*, 2015, **21**(5): 756-763
- [48] Huang K C, Mukhopadhyay R, Wingreen N S. A curvature-mediated mechanism for localization of lipids to bacterial poles. *PLoS Computational Biology*, 2006, **2**(11): e151
- [49] Khalifat N, Puff N, Bonneau S, *et al.* Membrane deformation under local pH gradient: mimicking mitochondrial cristae dynamics. *Biophysical Journal*, 2008, **95**(10): 4924-4933
- [50] Ban T, Heymann J A, Song Z, *et al.* OPA1 disease alleles causing dominant optic atrophy have defects in cardiolipin-stimulated GTP hydrolysis and membrane tubulation. *Human Molecular Genetics*, 2010, **19**(11): 2113-2122
- [51] Mileykovskaya E, Penczek P A, Fang J, *et al.* Arrangement of the respiratory chain complexes in *Saccharomyces cerevisiae* supercomplex III<sub>2</sub>IV<sub>2</sub> revealed by single particle cryo-electron microscopy. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, **287**(27): 23095-23103
- [52] Wenz T, Hielscher R, Hellwig P, *et al.* Role of phospholipids in respiratory cytochrome bc(1) complex catalysis and supercomplex formation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, **1787**(6): 609-616
- [53] Bazan S, Mileykovskaya E, Mallampalli V K, *et al.* Cardiolipin-dependent reconstitution of respiratory supercomplexes from purified *Saccharomyces cerevisiae* complexes III and IV. *The Journal of Biological Chemistry*, 2013, **288**(1): 401-411
- [54] Barth P G, Scholte H R, Berden J A, *et al.* An X-linked mitochondrial disease affecting cardiac muscle, skeletal muscle and neutrophil leucocytes. *Journal of the Neurological Sciences*, 1983, **62**(1-3): 327-355
- [55] Bissler J J, Tsoras M, Goring H H, *et al.* Infantile dilated X-linked cardiomyopathy, G4.5 mutations, altered lipids, and ultrastructural malformations of mitochondria in heart, liver, and skeletal muscle. *Laboratory Investigation*, 2002, **82**(3): 335-344
- [56] Acehan D, Vaz F, Houtkooper R H, *et al.* Cardiac and skeletal muscle defects in a mouse model of human Barth syndrome. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, **286**(2): 899-908
- [57] Rampelt H, Wollweber F, Gerke C, *et al.* Assembly of the mitochondrial cristae organizer Mic10 is regulated by Mic26-Mic27 antagonism and cardiolipin. *Journal of Molecular Biology*, 2018, **430**(13): 1883-1890
- [58] Bowron A, Honeychurch J, Williams M, *et al.* Barth syndrome without tetralinoleoyl cardiolipin deficiency: a possible ameliorated phenotype. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2015, **38**(2): 279-286
- [59] Gu Z, Valianpour F, Chen S, *et al.* Aberrant cardiolipin metabolism in the yeast taz1 mutant: a model for Barth syndrome. *Molecular Microbiology*, 2004, **51**(1): 149-158
- [60] Morais V A, Verstreken P, Roethig A, *et al.* Parkinson's disease mutations in PINK1 result in decreased Complex I activity and deficient synaptic function. *EMBO Molecular Medicine*, 2009, **1**(2): 99-111
- [61] Gatt A P, Duncan O F, Attems J, *et al.* Dementia in Parkinson's disease is associated with enhanced mitochondrial complex I deficiency. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 2016, **31**(3): 352-359
- [62] 蒋娟. 生酮饮食治疗帕金森病39例临床效果观察. *南通大学学报(医学版)*, 2018, **38**(03): 235-237
- Jiang J. *Journal of Nantong University (Medical Edition)*, 2018, **38**(03): 235-237
- [63] Li H, Jones E M, Li H, *et al.* Clinical and genetic features of eight Chinese autosomal-dominant optic atrophy pedigrees with six novel OPA1 pathogenic variants. *Ophthalmic Genetics*, 2018, **39**(5): 569-576
- [64] Ferre M, Bonneau D, Milea D, *et al.* Molecular screening of 980 cases of suspected hereditary optic neuropathy with a report on 77 novel OPA1 mutations. *Human Mutation*, 2009, **30**(7): E692-705
- [65] Puomila A, Huoponen K, Mantyjarvi M, *et al.* Dominant optic atrophy: correlation between clinical and molecular genetic studies. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 2005, **83**(3): 337-346
- [66] Barboni P, Valentino M L, La Morgia C, *et al.* Idebenone treatment in patients with OPA1-mutant dominant optic atrophy. *Brain*, 2013, **136**(Pt 2): e231



## Advances in Mitochondrial Ultrastructure and Its Regulatory Mechanism\*

HUANG Guo-Min<sup>1,2,3,4)\*\*</sup>, WANG Yu-Pei<sup>5)\*\*</sup>, SUN Chao<sup>1,2,3,4)</sup>,  
ZHANG Xue-Tian<sup>1,2,3,4)</sup>, ZHANG Hong<sup>1,2,3,4)\*\*\*</sup>

<sup>1)</sup>*Institute of Modern Physics, University of Chinese Academy of Sciences, Lanzhou730000, China;*

<sup>2)</sup>*University of Chinese Academy of Sciences, Beijing100049, China;*

<sup>3)</sup>*Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Biology and Medicine of Chinese Academy of Sciences; Lanzhou730000, China;*

<sup>4)</sup>*Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Medicine of Gansu Province, Lanzhou730000, China;*

<sup>5)</sup>*Gansu Provincial Maternal and Child Health Care Center, Lanzhou730000, China)*

**Abstract** Mitochondrial ultrastructure is a fine structure observed by electron microscope, which can be changed according to different energy requirements and physiological environment, and plays a key role in regulating mitochondrial function. The structure of mitochondrial cristae is an important mitochondrial ultrastructure, which affects many mitochondrial diseases. Therefore, studying the function and understanding the regulation mechanism of mitochondrial ultrastructure have important guiding significance for studying mitochondrial diseases and looking for therapeutic targets. This paper introduces the main regulating mechanism of mitochondrial cristae in detail, and focuses on the research progress in the composition of mitochondrial ultrastructure, the effect of mitochondrial ultrastructure on mitochondrial function, and the relationship between mitochondrial ultrastructure and mitochondrial disease, in order to provide theoretical reference for developing more effective mitochondrial disease treatment.

**Key words** mitochondria, ultrastructure, Crista junction, MICOS, F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP synthase

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2019.0142

---

\* This work was supported by a grant from Ministry of Science and Technology National Key R&D Project(SQ2018YFE020524).

\*\* These authors contributed equally to this work.

\*\*\* Corresponding author.

Tel: 86-931-4969344, E-mail: zhangh@impcas.ac.cn

Received: June 26, 2019 Accepted: October 25, 2019