



Parkin 介导的线粒体自噬及细胞器互作机制*

张晓放^{1,2)} 李思琦³⁾ 张强²⁾ 张晶²⁾ 芦小单^{1,2,3,4)**}⁽¹⁾ 长春中医药大学临床医学院, 长春 130021; ⁽²⁾ 吉林省人民医院医学诊治实验中心, 长春 130021;⁽³⁾ 北华大学医学检验学院, 吉林 132013; ⁽⁴⁾ 长春师范大学生命科学学院, 长春 130123)

摘要 线粒体是细胞生理代谢活动发生的重要场所. 线粒体生发降解平衡是维持能量代谢稳定的重要保障. Parkin 作为 E3 泛素连接酶, 通过 PINK1/Parkin、LC3 等多种信号参与调控线粒体自噬过程. 此外, Parkin 还能够影响线粒体相关内质网膜、调控细胞器间钙流, 在线粒体-内质网对话过程中调控溶酶体途径介导的线粒体自噬. 脂肪组织是研究线粒体调节机制的理想模型: 寒冷刺激诱导富含线粒体的米色脂肪生成; 移除刺激后, 组织中线粒体消失恢复为白色脂肪, 但线粒体稳定性的调控机理目前仍有很多未知. 本文综述 Parkin 介导线粒体自噬途径的最新研究进展, 及其参与线粒体、内质网、溶酶体等不同细胞器间相互作用的调控机制.

关键词 Parkin, 线粒体自噬, 线粒体相关内质网膜, 内质网钙转运蛋白, 自噬

中图分类号 Q74

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0392

人和动物体内线粒体的生发 (mitochondrial biogenesis) 和清除 (mitochondrial clearance) 都受到精密的调控, 促使线粒体的数目维持在正常的生理水平. 当线粒体动态平衡过程被打破后, 易诱发发生肿瘤、糖尿病、心血管疾病、神经退行性疾病^[1-2], 因此线粒体自噬清除的分子机制也成为各研究领域共同的热点. Parkin 作为 E3 泛素连接酶, 广泛参与细胞内的生命活动, 介导受损的线粒体自噬, 维持细胞稳态. 随着研究的深入, 发现 Parkin 在介导内质网 (ER)、溶酶体等细胞器应激中也发挥重要调控作用. 本文综述了 Parkin 在介导线粒体、ER 及溶酶体自噬之间的作用机制.

1 Parkin 与线粒体自噬

1.1 线粒体的来源及功能

线粒体是细胞中供应能量的主要细胞器, 被称为细胞的“动力工厂”. 线粒体形成假说认为, 线粒体可能来源于一个单一的内共生事件, 当一个古细菌宿主细胞吞噬了能够氧化代谢的杆菌, 随后大多数基因从内共生体的基因组转移到宿主的基因组, 最终演变成成为线粒体^[2]. 细胞的代谢状态与线粒体的大小、形状、功能和位置密切相关. 随细胞

的代谢, 线粒体的形状从单个离散的细胞器转变为细胞内相互连接的网状网络, 并通过运输、融合、裂变和质量控制等动态事件, 促进线粒体形态的改变以适应细胞代谢. 通过改变线粒体动力学及其在细胞质内的定位, 积极参与细胞间代谢物转移、降解和生物发生^[3].

1.2 线粒体自噬与 PINK1/Parkin 途径

线粒体自噬是一种选择性清除受损线粒体的特异性自噬现象. 线粒体自噬主要分为两种调控途径: 由 PINK1-Parkin 介导的线粒体自噬, 以及 Nix (BNIP3L)、BNIP3、FUNDC1 等线粒体外膜自噬受体介导的线粒体自噬. 它们在许多病理过程中起着至关重要的保护机体的作用, 如在受损心肌中发挥修复和再生功能, 防止其进展为心衰; 在脂肪组织中介导米色脂肪向白色脂肪转化, 防止其能量过度消耗^[4-5].

当细胞中线粒体受损, PINK1/Parkin 信号通路

* 国家自然科学基金 (31900823, 32011540004), 吉林省人社厅人才开发资金 (2019019) 和吉林省卫健委项目 (2019J069) 资助.

** 通讯联系人.

Tel: 13804330676, E-mail: luxiaodan@ccsfu.edu.cn

收稿日期: 2020-10-30, 接受日期: 2021-04-01

被激活, 稳定的PINK1从内膜到外膜转位并锚定在线粒体外膜上, 通过磷酸化作用将Parkin招募到受损的线粒体上, 通过泛素化酶的作用形成自噬溶酶体, 将受损的线粒体包含其中降解, 并回收利用其降解产生的蛋白质、磷脂膜等物质, 这一模型的建立为后续的研究奠定了基础^[6]. 根据线粒体自噬过程中发挥效应的3个关键分子PINK1、TBK1和ULK1, 将线粒体自噬的过程分为起始、识别和隔离三个阶段. PINK1招募Parkin-Ub发生在线粒体自噬的起始阶段, 进而放大线粒体受损后的泛素化信号并激活自噬^[7]. 有研究发现, PINK1敲除小鼠的棕色脂肪功能失调, 在棕色脂肪中形成炎症小体NLRP3, 并介导了棕色脂肪白色化的过程^[8]. Parkin在脂肪组织重塑过程中发挥关键作用, 米色脂肪细胞通过Parkin介导的线粒体自噬途径向白色脂肪转变. 在米色脂肪组织中, Parkin被招募到线粒体外膜上启动线粒体自噬, 同时脂肪组织中的线粒体自噬过程又受到肾上腺素受体 β 3-AR的影响, 能激活cAMP-PKA介导的Parkin磷酸化, 显著抑制线粒体招募Parkin及线粒体自噬^[5].

PINK/Parkin介导的线粒体自噬也受到自噬受体蛋白的调控. PHB2 (prohibitin 2) 是一种高度保守的膜支架蛋白, 能够作为线粒体内膜受体参与介导线粒体自噬^[9]. 在线粒体膜去极化或错误折叠的蛋白质聚集时, PHB2激活线粒体内膜蛋白酶PARL, 该酶与PHB2相互作用破坏线粒体中PINK1的稳定性, 从而阻断线粒体对Parkin、泛素和视神经磷酸酶OPTN的招募, 抑制线粒体自噬^[10]. 线粒体外膜蛋白Sam50是PINK1-Parkin系统的新型重要调节因子, 通过调节线粒体动力学和PINK1-Parkin活性在线粒体质量控制中起关键作用^[11]. 这表明自噬体可以通过线粒体内膜和线粒体外膜自噬受体蛋白对线粒体双重识别, 可增加Parkin介导的线粒体清除过程的效率和特异性. 有研究发现, 蛋白磷酸酶PTEN-L能够直接拮抗PINK1-Parkin途径, 在体内和体外直接通过去磷酸化pSer65-Ub链途径, 阻断p-Ub链形成, 将线粒体自噬阻断在起始阶段^[12]. PTEN-L和PINK1活性的平衡有利于维持线粒体稳态, 靶向PTEN-L激活线粒体的活化机制有望成为治疗线粒体稳态失衡相关疾病的新靶点. 最近的研究揭示了一种不依赖于Parkin的线粒体自噬调控方式, PINK1通过磷酸化线粒体蛋白翻译延伸因子TUFm的丝氨酸位点S222, 调控TUFm在线粒体-胞质的分布. 在胞质

中, p-S222-TUFm能够结合Atg5, 竞争性抑制Atg5-Atg12复合体形成, 抑制线粒体自噬^[13].

1.3 Parkin参与的ER-线粒体互作

细胞器间通讯通常涉及部分内膜表面的相互接触, 是维持细胞器稳态和机体健康的关键, 膜接触部位可调节细胞间的通讯. ER衍生的线粒体相关膜(MAM)对于调控线粒体动力学和功能起重要作用. MAM是ER和线粒体之间紧密接触的脂筏结构, 相距约10~25 nm, 建立ER和线粒体之间的通信, 介导许多胞内事件, 包括Ca²⁺稳态、脂质转移、线粒体代谢和动力学、细胞凋亡和线粒体自噬等^[14]. Yang等^[15]设计了一种利用分裂的GFP蛋白, 用它来标记MAM, 发现MAM是动态的结构, 在几分钟内就会发生重塑. 线粒体形态影响MAM的分布, 而ER形态对MAM的分布没有影响. 细胞凋亡或自噬的诱导剂羰基氰胺-氯苯腙(CCCP)、寡霉素A和限制能量摄入均能够促进MAM形成. 在小鼠成纤维细胞的研究中发现, 限制能量摄入能够触发线粒体分裂和自噬, 增加MAM的数量, 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)从细胞浆转移到MAM处, 与MAM上的线粒体融合蛋白Mfn2直接相互作用, 促进自噬与线粒体分裂^[16]. Parkin和PINK1已被证明位于ER-线粒体接触部位, 在线粒体自噬的刺激下, 内源性PINK1和前自噬蛋白BECN1重新定位在MAM处形成自噬小体^[17]. 近年来, ER-线粒体轴的作用被广泛研究, 逐渐成为细胞生存基础的复杂信号平台.

线粒体和ER之间一些关键的互补膜蛋白和一些调节蛋白, 起着束缚细胞中线粒体-ER两细胞器的作用, 分别包括互补膜蛋白PACS-2、Mfn2、IP3R-Grp75-VDAC、Fis1-Bap31、VAPB-PTPIP51和MOSPD2-PTPIP51复合物等, 以及钙结合蛋白CNX0、SERCA、Sig1R、Ero1 α 、ACSL4/FACL4、PSS、Atg14、CypD、Akt、mTORC2等^[18]. 其中, 最新研究发现, PACS-2 (phosphofurin acidic cluster sorting protein 2) 是MAM上的多功能分类蛋白, 在线粒体-ER-溶酶体稳态中起重要作用. 研究证实, 抑制PACS-2表达, 能够阻止线粒体Ca²⁺升高和Ca²⁺介导的细胞凋亡^[19]. 钙连蛋白(calnexin, CNX)是MAM处的Ca²⁺调节蛋白, PACS-2控制CNX向MAM的分配. Polycystin-2是PACS-2的转运蛋白, 而PACS-2控制着Polycystin-2向ER的转运^[20]. Polycystin-2位于MAM处, 并通过与MAM处的蛋白质(例如IP3R和VDAC)相互

作用来调节 Ca^{2+} 信号传导^[21]。此外, PACS-2 还调节 MAM 处的自噬小体形成, 抑制 PACS-2 的表达会减少饥饿细胞中自噬标记物 LC3 II, 这与抑制 STX17 依赖性 ATG14 招募到 ER 线粒体接触位点相关^[22]。

Parkin、PINK1 和 DJ-1 基因与帕金森病等神经退行性疾病密切相关^[23]。DJ-1 对维持线粒体网络的完整性和功能具有重要作用, 通过调节 ER-线粒体功能相互作用控制线粒体 Ca^{2+} 稳态^[24]。DJ-1 与线粒体伴侣葡萄糖调节蛋白 75 (Grp75) 和位于线粒体外膜 (OMM) 的依赖电压阴离子通道 1 (VDAC1)、ER Ca^{2+} 通道的肌醇 1,4,5-三磷酸受体 (IP3R) 相互作用形成分子复合物 Grp75-IP3R-VDAC1, 使 IP3 敏感的 Ca^{2+} 储存与线粒体-ER 之间结构和功能耦联, 确保细胞内 Ca^{2+} 转移的效率。DJ-1 与 IP3R-Grp75-VDAC 复合物相互束缚作用 (tethering), 从而控制 ER-线粒体的相互作用^[25]。

2 Parkin与ER/肌质网应激

2.1 PINK1/Parkin与线粒体-ER物理连接

ER 是贮存 Ca^{2+} 的主要场所, 对维持细胞内 Ca^{2+} 稳态起到重要作用。研究发现, PINK1 可直接磷酸化 LETM1 (一种线粒体内膜蛋白, 可介导线粒体依赖的 Ca^{2+} 交换)。敲低 LETM1 降低 Ca^{2+} 在线粒体中运输的速率, 导致线粒体生物能量、代谢和细胞死亡相关信号转导的敏感性增高^[26-27]。线粒体和 ER 被塑造造成扩展的网状结构, 这两个细胞器在形态上相互联系, 调控细胞内 Ca^{2+} 稳态。在对果蝇和 HeLa 细胞的实验研究中, 通过使用活细胞共聚焦成像细胞器形态、电子显微镜、FRET 测量 ER-线粒体物理接近度、Aequorin 等四种独立的方法测量 ER-线粒体间 Ca^{2+} 转移情况, 证明 Parkin 在调节 ER-线粒体物理连接距离中起作用, Parkin 的存在可能使线粒体-ER 连接更紧密, 这可能对协调 ER Ca^{2+} 转移至线粒体有重要作用^[28]。Miro1 是 PINK1/Parkin 在 MAMs 中的共同靶点, 在 PINK1/Parkin 激活诱导的线粒体自噬中, Miro1 减少导致线粒体运动功能障碍。其原因也与细胞内 Ca^{2+} 稳态受损有关, Ca^{2+} 的增加使线粒体分裂, 最终导致线粒体自噬发生^[29]。线粒体融合蛋白 2 (Mfn2) 对于调节 ER-线粒体物理连接距离的功能与 Parkin 正相反, Mfn2 缺失或减少的细胞增强了 ER-线粒体的距离, 增强了从 ER 到线粒体的 Ca^{2+} 转移, 并增加了线粒体 Ca^{2+} 超载对细胞凋亡的刺激^[30]。

2.2 内质网钙转运蛋白与 Parkin 介导的线粒体钙流

真核细胞质中 Ca^{2+} 浓度通常维持在较低水平, 大约 10~100 nmol/L, 通过细胞膜上 Ca^{2+} 通道内流或 ER 中 Ca^{2+} 释放迅速升高。 Ca^{2+} 通过 MAM 从 ER 释放到线粒体^[31]。IP3Rs 和 RyRs 是位于内质网/肌浆网上的两个 Ca^{2+} 受体, 负责内质网中 Ca^{2+} 释放, III 型 IP3R 在 MAM 处尤为丰富, 可导致线粒体 Ca^{2+} 浓度降低^[32]。而 RyRs 的高表达仅限于可兴奋的细胞, 如骨骼肌 (RyR1)、脂肪 (RyR2)、心肌 (RyR2)、胰腺腺泡细胞 (RyR1 和 RyR2) 和神经元 (所有亚型)^[33-34]。FK506 结合蛋白 (FKBPs) 可与 Ca^{2+} 释放通道蛋白 RyR 形成复合物, 调控 Ca^{2+} 信号传导^[35]。研究表明, 通过镇静类药物右美托咪定调控心肌细胞中 FKBP12.6/RyR2 信号通路, 从而起到保护心肌的作用^[36]。Kajimura 教授课题组发现, 在米色脂肪中, 依赖于肌浆网 Ca^{2+} -ATP 酶 (SERCA2b) 的 Ca^{2+} 循环途径在米色脂肪产热过程中发挥重要作用, 作为一种主要的产热机制调控全身能量平衡^[33]。与棕色脂肪细胞中 UCP1 利用脂肪酸作为产热的主要燃料来源不同, 米色脂肪细胞通过 Ca^{2+} 循环产生 ATP 依赖型的产热方式。这种对葡萄糖氧化的代谢重组高度依赖于 SERCA2b-RyR2 通路, 增强了整个机体对能量的利用效率。ER 应激 (ER stress) 可导致错误折叠蛋白与未折叠蛋白在腔内聚集以及 Ca^{2+} 平衡紊乱^[36]。PERK 是未折叠蛋白反应 (UPR) 的关键效应因子, 结构生物学研究发现, PERK 与 ER-线粒体的相互作用具有直接相关性, ER 应激能够直接诱发线粒体应激, 使线粒体膜电位减小、线粒体碎片化和线粒体自噬^[35-36]。因此, Ca^{2+} 从 ER 至线粒体的转移是 ER 折叠能力和线粒体代谢的关键决定因素。

线粒体损伤诱发 ER 应激和 UPR 激活, 并通过转录因子 ATF4 上调 Parkin 表达。长期 ER 应激能够使转录因子 c-Jun 与 ATF4 竞争性地结合到 Parkin 的启动子区域, 抑制 Parkin 转录并破坏其对细胞的保护作用^[37]。线粒体裂变有利于 Parkin 介导的线粒体清除, 从而恢复线粒体的数量和质量。细胞内 Ca^{2+} 浓度升高能抑制凋亡细胞的线粒体断裂。Parkin 通过控制泛素介导的线粒体钙摄入蛋白 MICU1 降解来调节线粒体钙离子单向转运蛋白 (MCU) 活性, 从而调节线粒体 Ca^{2+} 浓度。MICU1 降解不但是调节依赖于 MCU 线粒体分裂的关键因子, 也是 Parkin 介导线粒体降解过程的一种反馈机制^[38]。

综上, 在短期内细胞特异性地抑制线粒体自噬, 有利于维持细胞内能量消耗和系统能量稳态, 这种保护作用是通过提高 Ca^{2+} 缓冲能力、激活 cAMP 信号通路等方式介导的. 同时, ER 应激相关的 Parkin 转录调控机制也是本领域内研究的热点.

3 溶酶体-线粒体-ER 互作

溶酶体内含多种酸性水解酶, 能够分解受损细胞成分并循环再利用, 是营养回收的枢纽^[39]. 在物理结构和功能上, 溶酶体能够通过膜接触位点与其他细胞器相互作用^[40]. Ca^{2+} 稳态对维持溶酶体内酸性水解酶活性至关重要. 在溶酶体与内小体、自噬体和质膜等其他内膜的融合过程中需要释放 Ca^{2+} , 调节内细胞膜运输、自噬和膜损伤的修复, 因此 Ca^{2+} 信号是维持溶酶体功能的关键途径.

溶酶体瞬时阳离子通道 TRPML1 是溶酶体膜上主要的 Ca^{2+} 通道, 可介导溶酶体-高尔基体反向运输、自噬小体-溶酶体融合、溶酶体重构、溶酶体胞吐作用等过程^[41-42]. TRPML1 激活后, 通过生成 PI3P 并招募 PI3P 结合蛋白到新生的自噬泡, 介导溶酶体 Ca^{2+} 释放, 刺激钙调蛋白 (CaM) 激活转录因子 EB (TFEB), 以依赖于 TFEB 的方式促进自噬小体的生物合成^[43]. 最新的研究发现, TRPML1 激活自噬泡形成的过程需要钙依赖激酶 CaMKK β 和 AMPK 的参与, 并激活 ULK1 和 VPS34 自噬蛋白复合物^[42]. 在线粒体受损的情况下, TFEB 通过影响线粒体生物发生和溶酶体降解的 PGC1 β -TFEB 信号通路, 可以恢复线粒体功能和细胞活力. 在 PINK1/Parkin 敲除小鼠中, PARIS 能够抑制 PGC1 α 及其下游转录因子 NRF1 和 TFAM 表达, 抑制线粒体生物合成^[44]. 在脂肪细胞中过表达 TFEB 对自噬-溶酶体系统的功能影响很小, 但能够通过上调 PGC-1 α 表达从而促进线粒体生物发生, 显著诱导白色脂肪中产生米色脂肪, 并提高小鼠的耐寒能力^[45]. TFEB 诱导受损线粒体的溶酶体降解, 在细胞的线粒体质量控制中发挥关键作用. PGC1 α -TFEB 信号传导是帕金森病和其他神经退行性疾病中有潜力的治疗靶标.

ER 膜蛋白 SIGMAR1 通过不依赖于 PINK1/Parkin 信号通路的方式参与调控线粒体清除的过程. 可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子 (NSF) 附着蛋白 SNAP 受体 (SNAREs) 是细胞器互作融合过程中的必需蛋白质. SIGMAR1 通过直接作用于 ATG14、STX17 和 VAMP8, 参与调节自噬体-溶酶

体融合过程^[46]. 溶酶体功能障碍或自噬体-溶酶体融合受损都会导致自噬体降解的延迟. 在溶酶体中, 组织蛋白酶 B (cathepsins B) 是降解自噬产物蛋白的主要蛋白酶, 其活性可作为溶酶体稳态的敏感指标^[47].

4 总结与展望

众所周知, 线粒体功能障碍和 Ca^{2+} 稳态失调与疾病的发生发展密切相关, 但其确切机制尚不完全清楚. Ca^{2+} 调节是 MAM 的主要功能之一, 细胞内 Ca^{2+} 稳态的破坏与胰岛素抵抗密切相关. Mfn2 积极参与胰岛素抵抗, 运动干预后的高脂饮食大鼠观察到较低的线粒体 ROS 水平、较高的线粒体膜电位和较弱的胰岛素抵抗能力^[48]. PINK1/Parkin 信号通路不仅通过泛素化线粒体外膜蛋白 (如 Mfn2) 途径成为线粒体自噬过程中重要的参与者, 破坏线粒体与 ER 之间的接触并且通过 ER 钙转运蛋白调节线粒体中 Ca^{2+} 浓度, 还在线粒体-ER 对话过程中调控溶酶体途径介导的线粒体自噬过程^[49]. 因此, 对 Parkin 相关蛋白的研究还有待更加深入的挖掘, 不仅要了解线粒体功能障碍与 Ca^{2+} 稳态之间的联系, 而且要发现 Parkin 相关蛋白在参与 ER-线粒体-溶酶体对话中的详细机制, 从而为能量代谢和线粒体稳态失衡相关疾病提供理论依据.

参 考 文 献

- [1] Picard M, Sandi C. The social nature of mitochondria: implications for human health. *Neurosci Biobehav Rev*, 2021, **120**: 595-610
- [2] Youle R J. Mitochondria-striking a balance between host and endosymbiont. *Science*, 2019, **365**(6454):eaaw9855
- [3] Yu S B, Pekkurmaz G, Mechanisms O, *et al.* Mitochondrial dynamics for energy homeostasis. *J Mol Biol*, 2018, **430**(21):3922-3941
- [4] Lampert M A, Orogo A M, Najor R H, *et al.* BNIP3L/NIX and FUNDC1-mediated mitophagy is required for mitochondrial network remodeling during cardiac progenitor cell differentiation. *Autophagy*, 2019, **15**(7):1182-1198
- [5] Lu X, Altshuler-Keylin S, Wang Q, *et al.* Mitophagy controls beige adipocyte maintenance through a Parkin-dependent and UCP1-independent mechanism. *Sci Signal*, 2018, **11**(527):eaap8526
- [6] Narendra D, Tanaka A, Suen D, *et al.* Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J Cell Biol*, 2008, **183**(5):795-803
- [7] Wang L, Qi H, Tang Y, *et al.* Post-translational modifications of key machinery in the control of mitophagy. *Trends Biochem Sci*, 2020, **45**(1):58-75
- [8] Ko M S, Yun J Y, Baek I J, *et al.* Mitophagy deficiency increases

- NLRP3 to induce brown fat dysfunction in mice. *Autophagy*, 2021, **17**(5):1205-1221
- [9] Wei Y, Chiang WC, Sumpter R, *et al.* Prohibitin 2 is an inner mitochondrial membrane mitophagy receptor. *Cell*, 2017, **168**(1-2):224-238
- [10] Yan C, Gong L, Chen L, *et al.* PHB2 (prohibitin 2) promotes PINK1-PRKN/Parkin-dependent mitophagy by the PARL-PGAM5-PINK1 axis. *Autophagy*, 2020, **16**(3):419-434
- [11] Jian F, Chen D, Chen L, *et al.* Sam50 Regulates PINK1-Parkin-mediated mitophagy by controlling PINK1 stability and mitochondrial morphology. *Cell Rep*, 2018, **23**:2989-3005
- [12] Wang L, Cho Y, Tang Y, *et al.* PTEN-L is a novel protein phosphatase for ubiquitin dephosphorylation to inhibit PINK1-Parkin-mediated mitophagy. *Cell Res*, 2018, **28**(8):787-802
- [13] Lin J, Chen K, Chen W, *et al.* Paradoxical mitophagy regulation by PINK1 and TUFm. *Mol Cell*, 2020, **80**(4):607-620
- [14] Zhou Z, Torres M, Sha H, *et al.* Endoplasmic reticulum-associated degradation regulates mitochondrial dynamics in brown adipocytes. *Science*, 2020, **368**(6486):54-60
- [15] Yang Z, Zhao X, Xu J, *et al.* A novel fluorescent reporter detects plastic remodeling of mitochondria-ER contact sites. *J Cell Sci*, 2018, **131**(1):jcs208686
- [16] Hu Y, Chen H, Zhang L, *et al.* The AMPK-MFN2 axis regulates MAM dynamics and autophagy induced by energy stresses. *Autophagy*, 2021, **17**(5):1142-1156
- [17] Gelmetti V, Rosa P D, Torosantucci L, *et al.* PINK1 and BECN1 relocalize at mitochondria-associated membranes during mitophagy and promote ER-mitochondria tethering and autophagosome formation. *Autophagy*, 2017, **13**(4):654-669
- [18] Sun Y, Ding S. ER-Mitochondria contacts and insulin resistance modulation through exercise intervention. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(24):9587
- [19] Yu S, Zhang L, Liu C, *et al.* PACS2 is required for ox-LDL-induced endothelial cell apoptosis by regulating mitochondria-associated ER membrane formation and mitochondrial Ca²⁺ elevation. *Exp Cell Res*, 2019, **379**(2):191-202
- [20] Myhill N, Lynes E, Nanji J, *et al.* The subcellular distribution of calnexin is mediated by PACS-2. *Mol Biol Cell*, 2008, **19**(7):2777-2788
- [21] Kuo I, Brill A, Lemos F, *et al.* Polycystin 2 regulates mitochondrial Ca²⁺ signaling, bioenergetics, and dynamics through mitofusin 2. *Sci Signal*, 2019, **12**(580):eaat7397
- [22] Hamasaki M, Furuta N, Matsuda A, *et al.* Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature*, 2013, **495**(7441):389-93
- [23] van der Vlag M, Havekes R, Heckman P R A. The contribution of Parkin, PINK1 and DJ-1 genes to selective neuronal degeneration in Parkinson's disease. *Eur J Neurosci*, 2020, **52**(4):3256-3268
- [24] Liu Y, Ma X, Fujioka H, *et al.* DJ-1 regulates the integrity and function of ER-mitochondria association through interaction with IP3R3-Grp75-VDAC1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(50):25322-25328
- [25] Basso V, Marchesan E, Ziviani E. A trio has turned into a quartet: DJ-1 interacts with the IP3R-Grp75-VDAC complex to control ER-mitochondria interaction. *Cell Calcium*, 2020, **87**:102186
- [26] Huang E, Qu D, Huang T, *et al.* PINK1-mediated phosphorylation of LETM1 regulates mitochondrial calcium transport and protects neurons against mitochondrial stress. *Nat Commun*, 2017, **8**(1):1399
- [27] Soman S, Keatinge M, Moein M, *et al.* Inhibition of the mitochondrial calcium uniporter rescues dopaminergic neurons in pink1 zebrafish. *Eur J Neurosci*, 2017, **45**(4):528-535
- [28] Basso V, Marchesan E, Peggion C, *et al.* Regulation of ER-mitochondria contacts by Parkin via Mfn2. *Pharmacol Res*, 2018, **138**:43-56
- [29] Grossmann D, Berenguer-Escuder C, Bellet M E, *et al.* RHOT1 Mutations in disrupt endoplasmic reticulum-mitochondria contact sites interfering with calcium homeostasis and mitochondrial dynamics in Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal*, 2019, **31**(16):1213-1234
- [30] Filadi R, Greotti E, Turacchio G, *et al.* Mitofusin 2 ablation increases endoplasmic reticulum-mitochondria coupling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(17):E2174-E2181
- [31] Csordás G, Várnai P, Golenár T, *et al.* Imaging interorganelle contacts and local calcium dynamics at the ER-mitochondrial interface. *Mol Cell*. 2010, **39**(1):121-132
- [32] Mendes C C P, Gomes D A, Thompson M, *et al.* The type III inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor preferentially transmits apoptotic Ca²⁺ signals into mitochondria. *J Biol Chem*, 2005, **280**(49):40892-40900
- [33] Gonano L A, Jones P P. FK506-binding proteins 12 and 12.6 (FKBPs) as regulators of cardiac Ryanodine receptors: insights from new functional and structural knowledge. *Channels (Austin)*, 2017, **11**(5):415-425
- [34] Ikeda K, Kang Q, Yoneshiro T, *et al.* UCP1-independent signaling involving SERCA2b-mediated calcium cycling regulates beige fat thermogenesis and systemic glucose homeostasis. *Nat Med*, 2017, **23**(12):1454-1465
- [35] Dhindwal S, Lobo J, Cabra V, *et al.* A cryo-EM-based model of phosphorylation- and FKBP12.6-mediated allosterism of the cardiac ryanodine receptor. *Sci Signal*, 2017, **10**(480): eaai8842
- [36] Yuan M, Meng X, Ma J, *et al.* Dexmedetomidine protects H9c2 cardiomyocytes against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced intracellular calcium overload and apoptosis through regulating FKBP12.6/RyR2 signaling. *Drug Des Devel Ther*, 2019, **13**:3137-3149
- [37] Bouman L, Schlierf A, Lutz A K, *et al.* Parkin is transcriptionally regulated by ATF4: evidence for an interconnection between mitochondrial stress and ER stress. *Cell Death Differ*, 2011, **18**(5):769-782
- [38] Boyman L, Karbowski M, Lederer W J. Regulation of mitochondrial ATP production: Ca signaling and quality control. *Trends Mol Med*, 2020, **26**(1):21-39
- [39] González A, Hall M N, Lin S, *et al.* AMPK and TOR: the Yin and Yang of cellular nutrient sensing and growth control. *Cell Metab*,

- 2020, **31**(3):472-492
- [40] Erpapazoglou Z, Mouton-Liger F, Corti O. From dysfunctional endoplasmic reticulum-mitochondria coupling to neurodegeneration. *Neurochem Int*, 2017, **109**:171-183
- [41] Zhang X, Cheng X, Yu L, *et al.* MCOLN1 is a ROS sensor in lysosomes that regulates autophagy. *Nat Commun*, 2016, **7**:12109
- [42] Scotto R A, Montefusco S, Soldati C, *et al.* TRPML1 links lysosomal calcium to autophagosome biogenesis through the activation of the CaMKK β /VPS34 pathway. *Nat Commun*, 2019, **10**(1):5630
- [43] Siddiqui A, Bhaumik D, Chinta S J, *et al.* Mitochondrial quality control *via* the PGC1 α -TFEB signaling pathway is compromised by Parkin Q311X mutation but independently restored by rapamycin. *J Neurosci*, 2015, **35**(37):12833-12844
- [44] Pirooznia S K, Yuan C, Khan M R, *et al.* PARIS induced defects in mitochondrial biogenesis drive dopamine neuron loss under conditions of parkin or PINK1 deficiency. *Mol Neurodegener*, 2020, **15**(1):17
- [45] Evans T D, Zhang X, Jeong S J, *et al.* TFEB drives PGC-1 α expression in adipocytes to protect against diet-induced metabolic dysfunction. *Sci Signal*, 2019, **12**(606):eaau2281
- [46] Yang H, Shen H, Li J, *et al.* SIGMAR1/Sigma-1 receptor ablation impairs autophagosome clearance. *Autophagy*, 2019, **15**(9):1539-1557
- [47] Man S M, Kanneganti T D. Regulation of lysosomal dynamics and autophagy by CTSB/cathepsin B. *Autophagy*, 2016, **12**(12):2504-2505
- [48] Palee S, Minta W, Mantor D, *et al.* Combination of exercise and calorie restriction exerts greater efficacy on cardioprotection than monotherapy in obese-insulin resistant rats through the improvement of cardiac calcium regulation. *Metabolism*, 2019, **94**:77-87
- [49] McLelland G L, Goiran T, Yi W, *et al.* Mfn2 ubiquitination by PINK1/parkin gates the p97-dependent release of ER from mitochondria to drive mitophagy. *Elife*, 2018, **7**: e32866

Parkin-mediated Mitophagy and Organelle Contacts*

ZHANG Xiao-Fang^{1,2)}, LI Si-Qi³⁾, ZHANG Qiang²⁾, ZHANG Jing²⁾, LU Xiao-Dan^{1,2,3,4)**}

¹⁾*School of Clinical Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, China;*

²⁾*Diagnostic Medical Research Center, Jilin Provincial People's Hospital, Changchun 130021, China;*

³⁾*School of Medical Laboratory Science, Beihua University, Jilin 132013, China;*

⁴⁾*School of Life Sciences, Changchun Normal University, Changchun 130123, China)*

Abstract Mitochondria is an major organelle for cellular physiology and metabolism. The homeostasis of mitochondrial biogenesis and degradation is important in maintaining the stability of energy metabolism. Mitophagy is regulated by PINK1/Parkin and LC3 signaling. Parkin, as an E3 ubiquitin ligase, mediates the process of mitochondrial degradation. Parkin is also involved in many other intracellular metabolic activities, such as regulating mitochondrial associated membrane (MAM) and controlling calcium flow in-between organelles. In response to external stimuli like chronic cold exposure, with abundant mitochondria biogenesis, beige adipocytes are generated in the white adipose tissue. Following the withdrawal of external stimuli, beige adipocytes directly acquire a white fat-like phenotype. Beige adipocyte is an ideal model to study the mechanism of mitochondrial regulation. However, the regulatory mechanism of mitochondrial homeostasis is still unclear. We have reviewed recent studies of novel mechanism on Parkin-mediated mitophagy, and furthermore, the regulatory mechanisms of organelle contacts between mitochondria, endoplasmic reticulum and lysosome.

Key words Parkin, mitophagy, mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes, ER calcium transporter, autophagy

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0392

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31900823, 32011540004), Jilin Talents Developing Fund (2019019) and Health Commission of Jilin Province (2019J069).

** Corresponding author.

Tel: 86-13804330676, E-mail: luxiaodan@ccsfu.edu.cn

Received: October 30, 2020 Accepted: April 1, 2021