



运动应激介导线粒体DAMP对先天性免疫的调控作用研究进展*

戈 哲¹⁾ 丁树哲^{2)**}⁽¹⁾ 深圳大学体育学院, 深圳 518060; ⁽²⁾ 华东师范大学青少年健康评价与运动干预教育部重点实验室, 上海 200241

摘要 线粒体是先天性免疫的关键调控者, 具体表现为: 线粒体可以通过释放多种线粒体损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs) 来诱发先天性免疫应答, 如线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)、线粒体转录因子A (mitochondrial transcription factor A, TFAM)、线粒体N-甲酰肽 (mitochondrial N-formyl peptides, F-MITs)、ATP等. 然而, 病毒也利用相应的机制抑制线粒体DAMPs诱导的先天性免疫. 众所周知, 适度的运动对机体免疫系统有着积极健康的影响, 而大强度运动反之. 再者, 运动又与线粒体的关系密切. 因此, 运动很可能通过线粒体DAMPs的释放来调控先天性免疫. 本文综述了线粒体DAMPs与先天性免疫的联系, 并探讨了运动在其中所扮演的角色, 以期从线粒体的视角为运动对先天性免疫的调控机制提供新的研究思路.

关键词 mtDNA, 先天性免疫, Toll样受体9, 线粒体外膜移位酶70, 环鸟苷酸-腺苷酸合成酶-干扰素基因刺激蛋白, 线粒体抗病毒信号蛋白

中图分类号 Q28

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0429

线粒体是双层膜性细胞器, 它在细胞中调控着众多生命活动的代谢过程, 例如: 细胞内能量代谢、活性氧 (ROS) 产生、程序性细胞死亡、钙离子代谢以及线粒体蛋白输入等功能. 此外, 线粒体与先天性免疫也有着密切的联系. 细胞模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 能够识别相应的病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 从而激活先天性免疫信号通路产生干扰素、炎症因子和趋化因子等来消灭入侵的外界病原微生物^[1]. PAMPs是病原微生物进化过程中相对保守的分子, 主要是病原微生物的核酸, 包括DNA (未甲基化CpG序列)、双链RNA、单链RNA、5-三磷酸核糖核酸、脂蛋白和细胞表面糖蛋白^[2]. 目前, 已知的PRRs主要包括Toll样受体 (Toll-like receptors, TLRs)、Nod样受体 (Nod-like receptors, NLRs)、RIG-I样受体 (RIG-I-like receptor, RLRs) 和黑色素瘤缺乏因子2 (absent in melanoma 2, AIM2) 受体等, 这些受体均与先天性免疫应答关系密切. 众多研究发现,

线粒体能够释放多种损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs), 其通过与PRRs受体结合来引发先天性免疫应答. 此外, 流行病学调查发现, 运动强度与上呼吸道感染率之间存在着J型曲线关系^[3], 这也体现了适当强度的运动可以增强机体的抗感染能力, 而大强度运动反之. 目前, 运动通过线粒体DAMPs对先天性免疫的调控鲜有报道. 因此, 本文综述了线粒体DAMPs与先天性免疫之间的联系, 并探讨了运动在二者之间所扮演的角色.

1 线粒体DAMPs与先天性免疫

在没有外界病原微生物入侵的情况下, PRRs也能通过识别线粒体DAMPs来诱发先天性免疫反应. 在正常情况下, 老化的线粒体和损伤的线粒体

* 国家自然科学基金 (31671241) 和深圳大学运动心理教育协同创新研究一般项目资助.

** 通讯联系人.

Tel: 021-62232387, E-mail: szding@tyxx.ecnu.edu.cn

收稿日期: 2020-12-07, 接受日期: 2021-06-07

在细胞内通过线粒体自噬的方式来避免DAMPs的积累.当线粒体自噬被抑制或者受损伤的线粒体在细胞内积聚从而超过了自噬清除受损线粒体的能力,此时损伤的线粒体将释放一些物质到胞浆和细胞外间隙中去,主要包括mtDNA、ATP、线粒体转录因子A (mitochondrial transcription factor A, TFAM)、线粒体N-甲酰肽 (mitochondrial N-formyl peptides, F-MITs)等.这些线粒体内容的释放将会通过细胞表面甲酰肽受体 (formyl peptide receptors, FPRs)和细胞内TLR9和NLRP3炎性小体等受体激活细胞先天性免疫信号通路,刺激炎性细胞因子的产生.此外,炎性细胞因子的产生还进一步刺激适应性免疫系统共同抵御外界病原体的入侵^[4].线粒体自噬的概念最先由Lemasters于2005年提出,它是指选择性细胞自噬降解线粒体的过程,即自噬体膜将损伤的线粒体包被后再与溶酶体融合,进一步降解损伤的线粒体来维持细胞内环境的稳定^[5].

1.1 线粒体DNA (mtDNA) 与先天性免疫

mtDNA中含有大量未甲基化的CpG序列,它与细菌DNA的CpG同源.TLR9是TLR家族成员之一,是识别未甲基化CpG DNA的重要模式识别受体^[6].mtDNA与TLR9结合可以产生免疫应答,二者相互作用通过髓样分化因子88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)激活核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路,增加促炎性细胞因子的表达,例如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6 (interleukin 6, IL-6)和白介素-1 β (IL-1 β).此外,它们还能激活干扰素调节因子7 (interferon regulation factor 7, IRF7)使树突状细胞和其他免疫细胞产生I型干扰素 (type I interferon, IFN-I)^[7],产生的炎症因子和IFN-I通过刺激炎症反应和干扰素信号通路分泌抗病毒蛋白来抵御外界病原体的感染.此外,线粒体ROS的产生使mtDNA氧化,氧化的mtDNA可被NLRP3炎性小体所识别,然后NLRP3与衔接分子凋亡相关点样蛋白 (apoptotic speck-like protein containing a caspase recruitment domain, ASC)和前半胱天冬酶1 (procaspase-1)相互作用激活半胱天冬酶1 (caspase 1),导致IL-1 β 和IL-18的分泌^[8].然而,使用溴化乙锭降低巨噬细胞的mtDNA拷贝数后,发现caspase-1的激活受损.这也直接说明了mtDNA在NLRP3信号的激活中起着关键的

作用^[9].

环鸟苷酸-腺苷酸合成酶 (cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)是一种胞浆DNA传感器,以DNA依赖的方式合成2'3'-cGAMP (cyclic GMP-AMP).因此,mtDNA可以通过cGAS-干扰素基因刺激蛋白 (stimulator of interferon gene, STING)信号通路诱导先天性免疫应答.具体过程是,线粒体释放的mtDNA进入胞浆被cGAS捕获,然后cGAS催化ATP和GTP合成2'3'-cGAMP进而激活STING,激活后的STING从内质网转运到高尔基体,募集TANK结合激酶1 (TANK-binding kinase 1, TBK1)使IRF3磷酸化,磷酸化的IRF3随后二聚化转移到细胞核内刺激IFN-I的表达^[10-11].另外,值得注意的是,不仅细胞自身能合成cGAMP来激活干扰素信号,而且细胞外cGAMP的转运能加强STING信号的激活.最近研究发现,被病毒感染的细胞产生的cGAMP能够通过容积调控性离子通道 (volume-regulated anion channels, VRACs)转运到非感染细胞中去激活STING信号和干扰素的生成,然而抑制VRACs通道能够使单纯疱疹病毒1 (Herpes simplex virus type 1, HSV-1)对干扰素的反应性降低^[12].这也意味着VRACs在STING调节的抗病毒干扰素信号中起着关键的作用.研究发现,STING还能通过激活NLRP3炎性小体和NF- κ B信号刺激炎症因子的生成.的确,人类单核细胞和巨噬细胞 (CD11b+、CD14+、CD163+)中,cGAS-STING信号激活能通过溶酶体依赖的细胞凋亡途径 (lysosomal-mediated cell death, LCD)引发K⁺细胞外流来激活NLRP3炎性小体,进而抵御外界病原体的入侵.然而,小鼠BMDM和MEFs中STING的激活并不激活LCD,并且低浓度的cGAMP刺激STING能够使IL-1 β 和IFN-I的生成解耦联^[13].这表明STING的激活LCD途径存在一个激活的阈值,当病原体感染加剧,STING过度激活则引发STING-LCD-K⁺外流-NLRP3来抵御感染.此外,STING还能通过I κ B激酶 (inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase, IKK)复合物激活NF- κ B,具体过程为:STING激活后,三结构域蛋白32 (tripartite motif protein 32, TRIM32)和TRIM56合成泛素化链使NF- κ B必需调节蛋白 (NF- κ B-essential modulator, NEMO)K63泛素化,随后激活IKK β 导致NF- κ B抑制因子 α (inhibitor of NF- κ B, I κ B α)磷酸化后被降解,从而激活NF- κ B.并且IKK β 还能激活TBK1,

反过来TBK1也能激活IKK β ,形成积极的反馈循环通路,增强cGAS-STING通路细胞因子的产生.重要的是,NF- κ B信号的激活对于IFN-I的生成至关重要^[11, 14].值得注意的是,cGAS在先天性免疫应答过程中起着关键的作用.有研究表明,DNA病毒感染cGAS基因敲除的免疫细胞不能产生IFN-I和其他抗病毒细胞因子^[15].除了上面提及的TLR9、NLRP3以及cGAS-STING信号通路外,还有AIM2. AIM2是干扰素诱导的HIN-200家族成员之一,mtDNA被AIM2捕获后进而激活caspase-1信号,从而导致IL-1 β 和IL-18的分泌^[16].

mtDNA还可以通过TLR9受体诱导中性粒细胞

胞外陷阱(neutrophil extracellular traps, NETs)产生,NETs上携带抗菌蛋白从而起到直接杀灭各种细菌病原体的作用^[17].另外,最近研究报道,C类CpG和非CpG寡脱氧核苷酸是细菌或者病毒的小DNA片段,在其干预下,B淋巴细胞、T细胞、NK细胞、单核细胞和中性粒细胞可以快速释放mtDNA网状物.其释放的mtDNA网能促使其他细胞产生IFN-I,起到快速免疫应答作用,这种mtDNA网与NETs携带抗菌蛋白杀灭病菌的方式有着本质的区别^[18].综上所述,mtDNA可以通过多种途径诱导先天性免疫反应(图1).

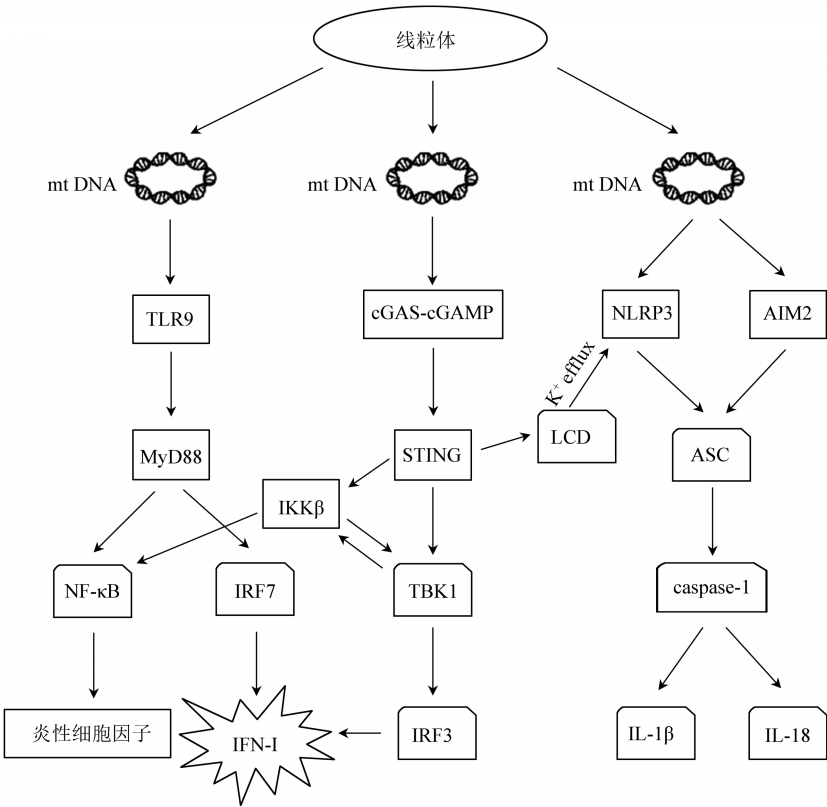


Fig. 1 Innate immune signaling pathway triggered by mitochondrial DNA
图1 线粒体DNA引发的先天性免疫信号通路

1.2 TFAM与先天性免疫

TFAM是参与mtDNA转录的重要因子,它由核基因编码,并且与mtDNA的拷贝数存在正相关关系^[19].TFAM也能刺激先天性免疫反应,有研究表明,在大鼠出血性休克的情况下,TFAM从细胞中释放进入血液循环内,然后TFAM作为DAMP激活巨噬细胞产生促炎性细胞因子TNF- α 和IL-6.并且在对大鼠静脉注射TFAM后,发现其血液中促

炎性细胞因子上调,进一步导致肺部组织中性粒细胞浸润和健康动物组织器官的损伤^[20].这也表明TFAM是内源性危险的炎症信号分子.在正常情况下,TFAM会结合mtDNA并阻止mtDNA释放到胞浆中去.然而,在病毒干预细胞后线粒体损伤,TFAM表达降低,mtDNA随后释放到胞浆中,引发cGAS-STING先天性免疫应答^[10].在细胞坏死的情况下,TFAM可从坏死细胞中释放.并且在

F-MITs与FPRs之间相互作用的情况下,显著激活单核细胞分泌IL-8,促进机体局部的炎症反应^[21].另外,坏死细胞还能释放出TFAM与mtDNA结合物,然后二者分别与浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cells, pDC)的晚期糖基化终产物受体(receptor of advanced glycation endproducts, RAGE)和TLR9受体结合形成核内体信号复合物,通过PI3K/AKT和ERK通路以及TLR-9/NF- κ B通路诱导IFN-I的生成^[22].

1.3 线粒体其他DAMPs与先天性免疫

除了mtDNA和TFAM之外,线粒体其他DAMPs同样也能激活先天性免疫反应.当线粒体损伤或功能失调时,心磷脂从线粒体内膜移动到外膜,与NLRP3的亮氨酸富集重复(leucine-rich repeat, LRR)结合导致NLRP3炎性小体的激活,促进caspase-1切割IL-1 β 前体产生成熟的IL-1 β ^[23].此外,琥珀酸与先天性免疫也存在密切的关系,体外实验表明线粒体能够分泌琥珀酸到细胞外间隙^[24].用脂多糖刺激巨噬细胞增加细胞糖酵解的过程,导致琥珀酸生成增多,然后琥珀酸可以通过诱导低氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)的表达,促使IL-1 β 的生成.并且巨噬细胞在琥珀酸外源性干预的情况下,IL-1 β 的生成同样增多^[25].这些研究结果表明,线粒体分泌的琥珀酸可以通过刺激IL-1 β 的生成来调节先天性免疫.除此之外,线粒体ATP能够释放到细胞外与嘌呤能离子通道型受体7(purinergic ligand-gated ion channel 7 receptor, P2X7R)受体结合导致P2X7通道开放,从而引发快速的钾离子外流,导致caspase-1的激活从而产生IL-1 β 和IL-18^[26-27].并且细胞外ATP还能导致NADPH氧化酶依赖的ROS产生,促进吞噬体和溶酶体的融合,从而促进细菌的杀灭^[4].然而细胞外过高浓度的ATP将直接诱导细胞凋亡^[28].另外,创伤诱导线粒体释放F-MITs,其进一步引发的炎症反应能导致急性肺损伤^[29].这些都表明,线粒体损伤所导致的心磷脂外露、琥珀酸以及ATP等的释放都与先天性免疫存在着密切的关系.

1.4 线粒体功能蛋白与先天性免疫

除了线粒体DAMPs引发先天性免疫外,线粒体功能蛋白也与先天性免疫存在密切的联系.RLRs也能识别病原体的RNA,其可通过病毒特定的RNA序列来区分自身RNA和病毒RNA^[30].在RNA病毒感染后,维甲酸诱导基因I(retinoic acid-

inducible gene I, RIG-I)和黑色素瘤分化相关基因(melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5)分别识别不同类型的RNA链来引发免疫应答反应.在RIG-I识别长链RNA后,E3泛素连接酶TRIM25通过K63多聚泛素化RIG-I的caspase募集结构域(caspase recruitment domains, CARD)^[31],进而使RIG-I活化.在MDA5识别短链RNA后,TRIM65则使MDA5的赖氨酸743位点发生K63多聚泛素化^[32].激活的RIG-I和MDA5其N端CARD与线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS)的N端CARD之间相互作用使MAVS激活,然后MAVS可以通过IKK复合体激活NF- κ B信号.并且MAVS还与转位到线粒体上的肿瘤坏死因子相关受体因子(tumor necrosis factor receptor-associated factor, TRAFs)相互作用,进而诱导TBK1和IKK ϵ 的募集,促进IRF3和IRF7磷酸化,进而诱导IFN-I的生成^[33-34].另外,在RNA病毒感染时,线粒体外膜移位酶70(translocases of outer membrane 70, Tom70)与MAVS之间也存在相互作用,然后其结合热休克蛋白90(heat shock protein 90, Hsp90)募集TBK1和IRF3到线粒体,使IRF3激活,促使IFN- β 生成^[35].这些研究充分说明了不只是线粒体DAMPs,其外膜相关蛋白与先天性免疫同样具有密切的联系.

1.5 病毒对先天性免疫信号的抑制作用

虽然先天性免疫信号在病原体入侵时起着至关重要的作用,病毒也能通过多种途径劫持线粒体介导的先天性免疫反应.例如:病毒可以利用G蛋白偶联受体54(G protein-coupled receptor 54, GPR54)来抑制先天性免疫信号.GPR54是神经肽kisspeptin的关键受体.在病毒感染期间,病毒刺激下丘脑和垂体释放kisspeptin到血液中去,进而通过GPR54/钙调磷酸酶(calcineurin)轴使TBK1去磷酸化,从而抑制IFN-I的产生和抗病毒免疫^[36].此外, β 抑制蛋白2(β -arrestin 2)可以通过与cGAS相互作用,增加dsDNA与cGAS的结合,进而增强cGAMP介导的下游先天性免疫信号.然而病毒还能通过降解 β -arrestin 2来抑制先天性免疫信号的活化来实现免疫逃逸^[37].并且病毒感染还能下调lncRNA-GM的表达,导致TBK1的S-谷胱甘肽化水平升高,进而抑制TBK1的活性来实现免疫逃逸^[38].此外,然而病毒还能利用宿主蛋白磷酸酶PPM1G来抑制先天性免疫,原因在于PPM1G

能使STING和MAVS去磷酸化来抑制IFN-I的产生^[39]。值得注意的是,病毒还能直接劫持线粒体,强烈抑制IFN-I介导的宿主细胞先天性免疫^[40]。

2 运动通过线粒体DAMPs及相关分子调控先天性免疫

2.1 运动通过mtDNA调控先天性免疫

mtDNA被线粒体释放后与细胞相应的免疫受体结合,引发先天性免疫应答。mtDNA释放的具体机制尚不清楚,可能通过以下途径来实现。a. mtDNA能通过线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)进入胞浆^[41]; b. 线粒体损伤可以导致mtDNA释放到胞浆和细胞外间隙中^[7]; c. 耐力运动可以诱导骨骼肌释放外泌体进入血液循环,进而对机体各个组织器官进行调控。释放的外泌体中还包含各种多肽、mtDNA、miRNA和mRNA^[42]。由此可见,外泌体的研究将是未来生命科学研究热点。

mtDNA作为一种DAMP,其可以触发无菌炎症。而适度运动对免疫系统有着多种健康的影响,其中最主要就是抗炎作用。例如:研究发现,专业的男性排球运动员在安静状态时,血液中游离mtDNA比正常人低^[43],这也意味着规律的体育活动与较低水平的循环mtDNA相关。并且人在一次性有氧运动(最大摄氧量60%)54 min以及90 min后即刻,其血浆游离mtDNA水平均显著降低^[44]。适当运动后血液中循环mtDNA的减少可能与线粒体自噬的激活有关。研究发现,不论何种运动强度,急性运动均可增强骨骼肌线粒体自噬^[45]。但也有研究发现,在急性中等强度运动的情况下,线粒体自噬并未被激活^[46]。因此,中度强度运动后线粒体自噬是否激活仍有待探索。此外,长期有氧运动可以下调血液白细胞促炎基因的表达,上调抗炎基因表达^[47-48]。并且其通过多种途径降低机体炎症水平,例如降低血液中促炎单核细胞的数量、降低单核细胞TLR4受体的表达以及促使骨骼肌释放抗炎细胞因子等^[49]。另外,相对于不运动的小鼠,6周的自主跑轮运动通过降低小鼠脂肪组织瘦素的分泌来增加骨髓(LepR+)基质细胞CXCL12等因子的表达,降低造血干祖细胞(hematopoietic stem and progenitor cells, LSKs)的增殖,从而降低促炎性白细胞的生成。进一步研究发现,促炎性白细胞的减少并未降低小鼠的免疫力,反而增强了

小鼠的抗感染能力^[50]。总的来说,这些结果与血液中较低水平循环的mtDNA相对应,为规律运动的抗炎作用和抗感染能力的增强提供了相应的科学依据。但也有研究发现,长期中等强度耐力训练可以使外周血游离mtDNA的含量增加^[51],研究结果值得进一步思考。

大强度运动则主要对机体起促炎作用。研究发现,急性长时间运动和重复高强度间歇运动后即刻骨骼肌细胞mtDNA降低^[52],且健康男性在一次性急性大强度运动后,血清游离的mtDNA水平显著升高^[53]。并且大强度运动导致肌肉损伤,其释放高迁移率族蛋白B1(high-mobility group box 1 protein, HMGB1)和mtDNA,能够分别通过TLR4和TLR9来激活炎症反应^[54]。这些研究表明,大强度运动导致大量骨骼肌mtDNA释放进入血液循环,进而刺激炎症反应。另外,剧烈的耐力运动会导致呼吸道的轻度上皮损伤和炎症,夏季和冬季运动的优秀运动员都表现出对哮喘的易感性增加^[55]。短期高强度运动可导致外周血白细胞线粒体功能障碍,并伴有凋亡倾向增加和促炎介质升高,这也支持过度运动的免疫抑制作用^[56]。值得注意的是,大强度运动诱导的线粒体自噬激活在减缓炎症方面起着重要的作用。研究发现,大强度力竭运动后小鼠心肌线粒体损伤,引发线粒体自噬清除受损线粒体,减少线粒体mtDNA释放,进而减缓STING激活的炎症信号和干扰素信号^[57]。通过这些研究可以推测骨骼肌线粒体可能在长时间大强度运动后出现了大量的损伤,虽然线粒体自噬被充分激活,但大量mtDNA仍然从肌肉释放进入血液循环,导致血液中免疫细胞功能紊乱,从而降低机体的免疫力。

2.2 运动通过其他线粒体DAMPs以及相关分子调控先天性免疫

运动除了影响mtDNA的释放外,还能影响其他线粒体DAMPs的表达。研究发现,长期的耐力运动能够使骨骼肌线粒体心磷脂的含量增加^[58],并且一周的运动还能使比目鱼肌中线粒体心磷脂的含量增加,有利于维持线粒体的健康^[59]。此外,长期的耐力运动也能增加线粒体TFAM的表达^[60]。由此可知,适当强度的运动有助于维持线粒体良好的功能状态,减少线粒体损伤,进而减少线粒体DAMPs的释放。然而,大强度运动可能与中等强度运动相反,推测大强度运动干预后导致细胞线粒

体损伤, 进而导致 F-MITs 的释放、TFAM 与 mtDNA 结合物的释放、线粒体心磷脂的外翻以及

琥珀酸和 ATP 的胞外释放等, 来诱导强烈的炎症反应 (图 2)。

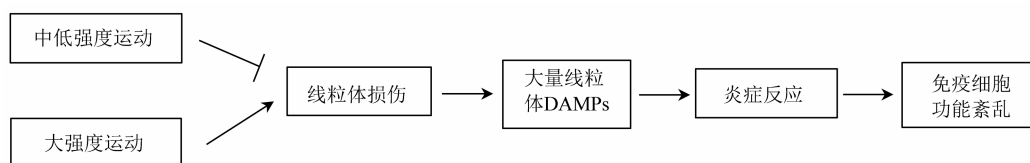


Fig. 2 Possible mechanism of regulation of innate immunity by mitochondria under exercise stress

图2 运动介导线粒体DAMPs调控先天性免疫的可能机制

除了线粒体自噬, 细胞浆中线粒体 DAMPs 的含量可能还与 mPTP 的开放程度有关. 值得注意的是, 有氧耐力运动可以降低 mPTP 的开放, 有利于维持正常的线粒体膜电位, 降低线粒体损伤^[61-62]. 然而大强度力竭运动则导致线粒体损伤, mPTP 的高通透性开放, 造成线粒体膜电位降低^[61]. 还有研究发现, 线粒体膜电位的下降抑制 RLR 通路, 降低 IFN-I 的产生^[63]. 这也意味着适当强度的运动很可能通过降低 mPTP 的开放来减少线粒体 DAMPs 的释放, 进而起抗炎作用. 大强度运动则通过开放 mPTP 使线粒体 DAMPs 的释放增多来起促炎作用. 另外, 有氧耐力运动对线粒体正常膜电位的维持可能有利于 RLR 通路的活化. 然而大强度运动通过诱导线粒体膜电位下降来抑制 RLR 信号, 这可能是大强度运动导致免疫抑制的原因之一. 但目前尚无研究报道证实, 具体机制仍有待进一步探索.

此外, 线粒体相关分子也能影响先天性免疫. 例如: 线粒体融合蛋白 2 (mitofusion2, Mfn2) 能负性调节 RLR 通路^[64], 而 Mfn1 是 Mfn2 的同源蛋白, Mfn1 可以促进线粒体延伸和线粒体与内质网的沟通, 增强 MAVS 与 STING 之间的相互作用, 加强 RLR 信号通路的免疫应答^[65]. 由此可见, Mfn1 和 Mfn2 二者在 RLR 免疫信号通路中的角色是对立的, 然而运动能影响 Mfn1 和 Mfn2 的表达. 研究表明, 一次性急性耐力运动后 24 h 骨骼肌中 Mfn1/2 的 mRNA 水平显著升高^[66]. 并且 8 周耐力跑台运动后, 大鼠 Mfn1 mRNA 显著升高以及 Mfn2 蛋白表达水平有上升的趋势^[67]. 然而, 由于 Mfn1 与 Mfn2 的表达在 RLR 信号通路中起着拮抗作用, 由此推断运动对先天性免疫的影响可能独立于 Mfn1/2. 另外, 最近研究发现, 病毒感染促使免疫细胞诱发 NF- κ B 的快速激活, 从而导致胆汁酸相关

转运蛋白以及胆汁酸相关生物合成酶高表达, 进一步导致细胞中胆汁酸堆积, 然后其通过 G 蛋白偶联胆汁酸受体 (Takeda G protein coupled receptor-5, TGR5)-G 蛋白偶联受体激酶 (GPCR related-kinase, GRK)- β -arrestin-非受体酪氨酸激酶 SRC 通路激活 RIG-I、MAVS、STING、TBK1 以及 IRF3 来增强先天性免疫^[68]. 胆汁酸是胆汁的主要成分, 胆汁酸的合成和转运对先天性免疫信号通路存在着显著的激活作用. 事实上, 有研究表明, 长期耐力运动增加胆汁酸的分泌和胆汁酸转运体的数量^[69], 而大强度力竭运动导致胆汁酸分泌显著减少^[70]. 另外, 最近研究发现, 运动影响骨骼肌 TGR5 的表达^[71]. 这些研究暗示了运动很可能通过胆汁酸途径来调控先天性免疫, 其具体机制值得进一步探索. 值得注意的是, 最近研究发现, 乳酸直接与 MAVS 跨膜结构域结合, 阻止 RLR 介导的 MAVS 信号活化, 抑制 IFN-I 生成^[72]. 众所周知, 大强度运动通过糖酵解促使大量的乳酸生成. 然而, 中等强度耐力也能导致乳酸的生成增多^[73]. 因此, 这也提示了虽然适当强度的运动可以增强机体的抗感染能力, 但是运动结束后即刻增多的乳酸仍然可能通过抑制先天性免疫从而导致受感染的风险增加.

3 小结与展望

线粒体在先天性免疫过程中扮演着至关重要的角色, 其释放的线粒体 DAMPs 与先天性免疫之间存在密切联系, 而且线粒体相关分子同样对先天性免疫存在调控作用. 线粒体是细胞的能量工厂, 高强度运动应激下线粒体可能会因为代谢压力或机械应力等因素导致线粒体损伤、进而导致大量线粒体 DAMPs 的释放, 从而引发强烈的炎症反应, 这与免疫功能的降低有关. 而中等强度规律的运动可减少组织器官释放 mtDNA 进入血液, 进而降低机体

的炎症水平, 这与免疫功能的增强有关. 除mtDNA外, 运动很可能通过其他线粒体DAMPs来影响先天性免疫, 这是值得思考的问题. 另外, 病毒还能通过多种途径调控先天性免疫信号来实现免疫逃逸. 然而, 运动是否能影响病毒的这些调控途径目前仍不清楚, 这些问题可为运动是如何改善人体免疫力的研究提供新的思路.

参 考 文 献

- [1] Takeuchi O, Akira S. Innate immunity to virus infection. *Immunol Rev*, 2009, **227**(1):75-86
- [2] Tang D, Kang R, Coyne C B, *et al.* PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev*, 2012, **249**(1): 158-175
- [3] Nieman D C. Exercise, infection, and immunity. *Int J Sports Med*, 1994, **15**(Suppl3):S131-S141
- [4] Nakahira K, Hisata S, Choi A M. The roles of mitochondrial damage-associated molecular patterns in diseases. *Antioxid Redox Signal*, 2015, **23**(17):1329-1350
- [5] Lemasters J J. Selective mitochondrial autophagy, or mitophagy, as a targeted defense against oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. *Rejuvenation Res*, 2005, **8**(1):3-5
- [6] Latz E, Schoenemeyer A, Visintin A, *et al.* TLR9 signals after translocating from the ER to CpG DNA in the lysosome. *Nat Immunol*, 2004, **5**(2):190-198
- [7] West A P, Shadel G S. Mitochondrial DNA in innate immune responses and inflammatory pathology. *Nat Rev Immunol*, 2017, **17**(6):363-375
- [8] Fang C, Wei X, Wei Y. Mitochondrial DNA in the regulation of innate immune responses. *Protein Cell*, 2016, **7**(1):11-16
- [9] Nakahira K, Haspel J A, Rathinam V A, *et al.* Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nat Immunol*, 2011, **12**(3):222-230
- [10] West A P, Khoury-Hanold W, Staron M, *et al.* Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response. *Nature*, 2015, **520**(7548):553-557
- [11] Cai X, Chiu Y H, Chen Z J. The cGAS-cGAMP-STING pathway of cytosolic DNA sensing and signaling. *Mol Cell*, 2014, **54**(2): 289-296
- [12] Zhou C, Chen X, Planells-Cases R, *et al.* Transfer of cGAMP into bystander cells via LRRC8 volume-regulated anion channels augments STING-mediated interferon responses and anti-viral immunity. *Immunity*, 2020, **52**(5): 767-781
- [13] Gaidt M M, Ebert T S, Chauhan D, *et al.* The DNA inflammasome in human myeloid cells is initiated by a STING-cell death program upstream of NLRP3. *Cell*, 2017, **171**(5):1110-1124
- [14] Fang R, Wang C, Jiang Q, *et al.* NEMO-IKK β are essential for IRF3 and NF- κ B activation in the cGAS-STING pathway. *J Immunol*, 2017, **199**(9):3222
- [15] Li X D, Wu J, Gao D, *et al.* Pivotal roles of cGAS-cGAMP signaling in antiviral defense and immune adjuvant effects. *Science*, 2013, **341**(6152):1390-1394
- [16] Fernandes-Alnemri T, Yu J W, Datta P, *et al.* AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA. *Nature*, 2009, **458**(7237):509-513
- [17] Itagaki K, Kaczmarek E, Lee Y T, *et al.* Mitochondrial DNA released by trauma induces neutrophil extracellular traps. *PLoS One*, 2015, **10**(3):e120549
- [18] Ingelsson B, Soderberg D, Strid T, *et al.* Lymphocytes eject interferogenic mitochondrial DNA webs in response to CpG and non-CpG oligodeoxynucleotides of class C. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(3):E478-E487
- [19] Kanki T, Ohgaki K, Gaspari M, *et al.* Architectural role of mitochondrial transcription factor a in maintenance of human mitochondrial DNA. *Mol Cell Biol*, 2004, **24**(22):9823-9834
- [20] Chaung W W, Wu R, Ji Y, *et al.* Mitochondrial transcription factor a is a proinflammatory mediator in hemorrhagic shock. *Int J Mol Med*, 2012, **30**(1):199-203
- [21] Crouser E D, Shao G, Julian M W, *et al.* Monocyte activation by necrotic cells is promoted by mitochondrial proteins and formyl peptide receptors. *Crit Care Med*, 2009, **37**(6):2000-2009
- [22] Julian M W, Shao G, Bao S, *et al.* Mitochondrial transcription factor a serves as a danger signal by augmenting plasmacytoid dendritic cell responses to DNA. *J Immunol*, 2012, **189**(1): 433-443
- [23] O'Neill L A. Cardiolipin and the Nlrp3 inflammasome. *Cell Metab*, 2013, **18**(5):610-612
- [24] Shaham O, Slate N G, Goldberger O, *et al.* A plasma signature of human mitochondrial disease revealed through metabolic profiling of spent media from cultured muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(4):1571-1575
- [25] Tannahill G M, Curtis A M, Adamik J, *et al.* Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α . *Nature*, 2013, **496**(7444):238-242
- [26] Rathinam V A, Vanaja S K, Fitzgerald K A. Regulation of inflammasome signaling. *Nat Immunol*, 2012, **13**(4):333-342
- [27] Davis B K, Wen H, Ting J P. The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. *Annu Rev Immunol*, 2011, **29**:707-735
- [28] Hao F, Zhang N N, Zhang D M, *et al.* Chemokine fractalkine attenuates overactivation and apoptosis of BV-2 microglial cells induced by extracellular ATP. *Neurochem Res*, 2013, **38**(5):1002-1012
- [29] Wenceslau C F, Szasz T, McCarthy C G, *et al.* Mitochondrial N-formyl peptides cause airway contraction and lung neutrophil infiltration via formyl peptide receptor activation. *Pulm Pharmacol Ther*, 2016, **37**:49-56
- [30] Runge S, Sparrer K M, Lassig C, *et al.* In vivo ligands of MDA5 and RIG-I in measles virus-infected cells. *PLoS Pathog*, 2014, **10**(4):e1004081
- [31] Lin H, Jiang M, Liu L, *et al.* The long noncoding RNA Lnc3h7a

- promotes a TRIM25-mediated RIG-I antiviral innate immune response. *Nat Immunol*, 2019, **20**(7):812-823
- [32] Lang X, Tang T, Jin T, *et al.* TRIM65-catalized ubiquitination is essential for MDA5-mediated antiviral innate immunity. *J Exp Med*, 2017, **214**(2):459-473
- [33] Fang R, Jiang Q, Zhou X, *et al.* MAVS activates TBK1 and IKKepsilon through TRAFs in NEMO dependent and independent manner. *PLoS Pathog*, 2017, **13**(11):e1006720
- [34] Jin H S, Suh H W, Kim S J, *et al.* Mitochondrial control of innate immunity and inflammation. *Immune Netw*, 2017, **17**(2):77-88
- [35] Liu X Y, Wei B, Shi H X, *et al.* Tom70 mediates activation of interferon regulatory factor 3 on mitochondria. *Cell Res*, 2010, **20**(9):994-1011
- [36] Huang H, Xiong Q, Wang N, *et al.* Kisspeptin/GPR54 signaling restricts antiviral innate immune response through regulating calcineurin phosphatase activity. *Sci Adv*, 2018, **4**(8):s9784
- [37] Zhang Y, Li M, Li L, *et al.* Beta-arrestin 2 as an activator of cGAS-STING signaling and target of viral immune evasion. *Nat Commun*, 2020, **11**(1):6000
- [38] Wang Y, Wang P, Zhang Y, *et al.* Decreased expression of the host long-noncoding RNA-GM facilitates viral escape by inhibiting the kinase activity TBK1 *via* S-glutathionylation. *Immunity*, 2020, **53**(6):1168-1181
- [39] Yu K, Tian H, Deng H. PPM1G restricts innate immune signaling mediated by STING and MAVS and is hijacked by KSHV for immune evasion. *Sci Adv*, 2020, **6**(47):eabd0276
- [40] Goswami R, Majumdar T, Dhar J, *et al.* Viral degradosome hijacks mitochondria to suppress innate immunity. *Cell Res*, 2013, **23**(8):1025-1042
- [41] Patrushev M, Kasymov V, Patrusheva V, *et al.* Mitochondrial permeability transition triggers the release of mtDNA fragments. *Cell Mol Life Sci*, 2004, **61**(24):3100-3103
- [42] Safdar A, Tarnopolsky M A. Exosomes as mediators of the systemic adaptations to endurance exercise. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, **8**(3):a029827
- [43] Nasi M, Cristani A, Pinti M, *et al.* Decreased circulating mtDNA levels in professional male volleyball players. *Int J Sports Physiol Perform*, 2016, **11**(1):116-121
- [44] Shockett P E, Khanal J, Sitaula A, *et al.* Plasma cell-free mitochondrial DNA declines in response to prolonged moderate aerobic exercise. *Physiol Rep*, 2016, **4**(1):e12672
- [45] Brandt N, Gunnarsson T P, Bangsbo J, *et al.* Exercise and exercise training-induced increase in autophagy markers in human skeletal muscle. *Physiol Rep*, 2018, **6**(7):e13651
- [46] Schwalm C, Deldicque L, Francaux M. Lack of activation of mitophagy during endurance exercise in human. *Med Sci Sports Exerc*, 2017, **49**(8):1552-1561
- [47] Liu D, Wang R, Grant A R, *et al.* Immune adaptation to chronic intense exercise training: new microarray evidence. *BMC Genomics*, 2017, **18**(1):29
- [48] Iyalomhe O, Chen Y, Allard J, *et al.* A standardized randomized 6-month aerobic exercise-training down-regulated pro-inflammatory genes, but up-regulated anti-inflammatory, neuron survival and axon growth-related genes. *Exp Gerontol*, 2015, **69**:159-169
- [49] Gleeson M, Bishop N C, Stensel D J, *et al.* The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol*, 2011, **11**(9):607-615
- [50] Frodermann V, Rohde D, Courties G, *et al.* Exercise reduces inflammatory cell production and cardiovascular inflammation *via* instruction of hematopoietic progenitor cells. *Nat Med*, 2019, **25**(11):1761-1771
- [51] Lim S, Kim S K, Park K S, *et al.* Effect of exercise on the mitochondrial DNA content of peripheral blood in healthy women. *Eur J Appl Physiol*, 2000, **82**(5-6):407-412
- [52] Marcuello A, Gonzalez-Alonso J, Calbet J A, *et al.* Skeletal muscle mitochondrial DNA content in exercising humans. *J Appl Physiol*, 2005, **99**(4):1372-1377
- [53] Stawski R, Walczak K, Kosielski P, *et al.* Repeated bouts of exhaustive exercise increase circulating cell free nuclear and mitochondrial DNA without development of tolerance in healthy men. *PLoS One*, 2017, **12**(5):e178216
- [54] McCarthy C G, Webb R C. The toll of the gridiron: damage-associated molecular patterns and hypertension in American football. *FASEB J*, 2016, **30**(1):34-40
- [55] Morici G, Gruttadauria C I, Baiaomonte P, *et al.* Endurance training: is it bad for you?. *Breathe (Sheff)*, 2016, **12**(2):140-147
- [56] Tuan T C, Hsu T G, Fong M C, *et al.* Deleterious effects of short-term, high-intensity exercise on immune function: evidence from leucocyte mitochondrial alterations and apoptosis. *Br J Sports Med*, 2008, **42**(1):11-15
- [57] Sliter D A, Martinez J, Hao L, *et al.* Parkin and PINK1 mitigate STING-induced inflammation. *Nature*, 2018, **561**(7722):258-262
- [58] Menshikova E V, Ritov V B, Dube J J, *et al.* Calorie restriction-induced weight loss and exercise have differential effects on skeletal muscle mitochondria despite similar effects on insulin sensitivity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2017, **73**(1):81-87
- [59] Faber C, Zhu Z J, Castellino S, *et al.* Cardiolipin profiles as a potential biomarker of mitochondrial health in diet-induced obese mice subjected to exercise, diet-restriction and ephedrine treatment. *J Appl Toxicol*, 2014, **34**(11):1122-1129
- [60] Slocum N, Durrant J R, Bailey D, *et al.* Responses of brown adipose tissue to diet-induced obesity, exercise, dietary restriction and ephedrine treatment. *Exp Toxicol Pathol*, 2013, **65**(5):549-557
- [61] 胡志刚, 周蕾, 丁树哲. 有氧训练对力竭运动大鼠线粒体通透性转运孔的影响. *沈阳体育学院学报*, 2015, **34**(3):64-67
- Hu Z G, Zhou L, Ding S Z. *Journal of Shenyang Sport University*, 2015, **34**(3):64-67
- [62] 黄志辉, 刘浩, 李宪航. 有氧运动对衰老大鼠心肌、肝脏细胞凋亡及线粒体膜电位的影响. *西安体育学院学报*, 2007(1):78-80
- Huang Z H, Liu H, Li X H. *Journal of Xi'an Institute of Physical Education*, 2007(1):78-80
- [63] Koshiba T, Yasukawa K, Yanagi Y, *et al.* Mitochondrial membrane

- potential is required for MAVS-mediated antiviral signaling. *Sci Signal*, 2011, **4**(158):a7
- [64] Yasukawa K, Oshiumi H, Takeda M, *et al.* Mitofusin 2 inhibits mitochondrial antiviral signaling. *Sci Signal*, 2009, **2**(84):a47
- [65] Castanier C, Garcin D, Vazquez A, *et al.* Mitochondrial dynamics regulate the RIG-I-like receptor antiviral pathway. *EMBO Rep*, 2010, **11**(2):133-138
- [66] Cartoni R, Leger B, Hock M B, *et al.* Mitofusins 1/2 and ERRA α expression are increased in human skeletal muscle after physical exercise. *J Physiol*, 2005, **567**(Pt 1):349-358
- [67] 漆正堂, 郭维, 张媛, 等. 不同运动方式对大鼠骨骼肌线粒体融合分裂基因及 mfn2、drp1 蛋白表达的影响. *中国运动医学杂志*, 2011, **30**(2):143-148
- Qi Z T, Guo W, Zhang Y, *et al.* *Chinese Journal of Sports Medicine*, 2011, **30**(2):143-148
- [68] Hu M M, He W R, Gao P, *et al.* Virus-induced accumulation of intracellular bile acids activates the TGR5-beta-arrestin-SRC axis to enable innate antiviral immunity. *Cell Res*, 2019, **29**(3):193-205
- [69] Meissner M, Lombardo E, Havinga R, *et al.* Voluntary wheel running increases bile acid as well as cholesterol excretion and decreases atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. *Atherosclerosis*, 2011, **218**(2):323-329
- [70] Villa J G, Almar M M, Collado P S, *et al.* Impairment of bile secretion induced by exhaustive exercise in the rat. Protective effects of S-adenosyl-L-methionine. *Int J Sports Med*, 1993, **14**(4):179-184
- [71] Sasaki T, Kuboyama A, Mita M, *et al.* The exercise-inducible bile acid receptor Tgr5 improves skeletal muscle function in mice. *J Biol Chem*, 2018, **293**(26):10322-10332
- [72] Zhang W, Wang G, Xu Z G, *et al.* Lactate is a natural suppressor of RLR signaling by targeting MAVS. *Cell*, 2019, **178**(1):176-189
- [73] Stanley W C, Wisneski J A, Gertz E W, *et al.* Glucose and lactate interrelations during moderate-intensity exercise in humans. *Metabolism*, 1988, **37**(9):850-858

Research Progress in The Regulation of Mitochondrial DAMPs Mediated by Exercise Stress on Innate Immunity*

GE Zhe¹⁾, DING Shu-Zhe^{2)**}

¹⁾School of Sport, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China;

²⁾Key Laboratory of Adolescent Health Assessment and Exercise Intervention of Ministry of Education, East China Normal University, Shanghai 200241, China)

Abstract Mitochondria play a pivotal role in innate immunity. Specifically, mitochondria can trigger innate immune response by releasing various damage associated molecular patterns (DAMPs), such as mitochondrial DNA (mtDNA), mitochondrial transcription factor A (TFAM), mitochondrial N-formyl peptides (F-MITs). However, the virus also uses a corresponding mechanism to suppress the innate immunity induced by mitochondrial DAMPs. It is well known that moderate exercise has a positive and healthy effect on the immune system, while high-intensity exercise has the opposite effect. Importantly, exercise is also intimately related to mitochondria. Thus, exercise is likely to regulate innate immunity through the release of mitochondria DAMPs. This paper reviews the link between mitochondrial DAMPs and innate immunity and explores the role of exercise in it, so as to provide new research ideas for the regulation mechanism of exercise on innate immunity from the perspective of mitochondria.

Key words mtDNA, innate immunity, TLR9, Tom70, cGAS-STING, MAVS

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0429

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31671241) and General Project of Institute of KEEP Collaborative Innovation in Shenzhen University.

** Corresponding author.

Tel: 86-21-62232387, E-mail: szding@tyxx.ecnu.edu.cn

Received: December 7, 2020 Accepted: June 7, 2021