



线粒体移植治疗神经系统疾病的策略及机制*

郑倩雯^{1,2)} 杨雁灵^{1)**} 王亚云^{2)**}⁽¹⁾ 空军军医大学第一附属医院肝胆胰脾外科, 西安 710032;⁽²⁾ 空军军医大学基础医学院, 教学实验中心, 神经系统疾病线粒体机制研究实验室, 西安 710032)

摘要 线粒体 (mitochondria) 承担细胞有氧呼吸功能, 神经系统作为机体巨大耗能组织高度依赖线粒体结构和功能稳定。研究表明, 线粒体异常是多种神经系统疾病发生发展的重要原因, 靶向线粒体开发治疗神经系统疾病的策略已成为前沿和热点。其中, 线粒体移植 (mitochondrial transplantation) 被认为有巨大治疗潜能。线粒体移植是将外源性健康线粒体以直接或间接方式移植进入受损机体, 通过改善神经系统线粒体功能, 最终达到改善或治疗神经系统疾病的目的。本篇综述回顾了线粒体移植治疗多种神经系统疾病的研究进展, 重点阐述移植策略、细胞和分子机制及面临的挑战, 以期临床开发新的治疗手段提供线索与依据。

关键词 线粒体, 线粒体移植, 神经系统, 神经系统疾病, 纳米通道

中图分类号 R322, R35

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0552

线粒体 (mitochondria) 是绝大多数细胞的生物能量合成装置, 通过氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation, OXPHOS) 产生三磷酸腺苷 (adenosin triphosphate, ATP) 为细胞供能。同时, 线粒体还在脂肪酸生物合成、细胞钙的缓冲、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生及氧化应激 (oxidative stress) 中发挥重要作用^[1-2]。既往研究表明, 线粒体形态或功能异常参与多种临床疾病, 包括心血管系统疾病 (心肌肥大、冠状动脉粥样硬化、心肌梗死等)^[3-4]、代谢疾病 (糖尿病、肥胖等)^[5-7]、恶性肿瘤 (肝癌、肺癌、肠癌等)^[8-10] 和泌尿系统疾病 (肾衰、肾炎)^[11] 等。其中, 线粒体异常对神经系统造成的损伤格外令人关注, 究其原因在于脑对线粒体的高度依赖性。

脑是体内耗氧量最大器官, 其基本生物学功能包括神经递质释放及突触可塑性等, 而以上活动均需依赖大量 ATP 分子^[12]。研究表明, 人的单个皮层神经元每秒耗能多达 47 亿个 ATP 分子^[13], 兴奋性 (谷氨酸能) 神经元消耗大脑 80%~85% 的 ATP, 而抑制性神经元和其他细胞消耗其余 15%~17% 的 ATP^[14]。在神经元的突触前和突触后结构、轴突起始段、郎飞结节点以及生长锥等高耗能区, 其对

ATP 的实时足量供应提出了更加苛刻的要求。与此同时, 在 ATP 产生方面, 神经元具有与其他体细胞截然不同的特点, 即其所需 93% ATP 分子来源于线粒体有氧呼吸的三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle, TCA cycle), 也称柠檬酸循环 (citric acid cycle) 或 Krebs 循环, 仅有 7% ATP 分子来源于不依赖线粒体的胞质有氧糖酵解过程 (aerobic glycolysis)。不仅如此, 线粒体还通过调控钙离子稳态、参与细胞凋亡、介导氧化应激等机制, 发挥调控神经元突触可塑性的重要作用。由此可见, 线粒体的稳定性已成为神经系统稳态的重要基础, 而线粒体的形态或功能异常可导致神经传递异常, 最终引起多种神经系统疾病^[15-16]。大量研究表明, 帕金森病 (Parkinson's disease, PD)、阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)、亨廷顿氏病

* 国家自然科学基金 (81870415), 军事口腔医学国家重点实验室开放课题 (2018KA01), 军事医学创新工程 (2019ZTC03, 16CXZ022), 陕西省重点研发计划 (2018JZ8003) 和西京医院科技助推计划 (XJZT19Z29) 资助项目。

** 通讯联系人。

王亚云 Tel: 029-84712341, E-mail: wangyy@fmmu.edu.cn

杨雁灵 Tel: 13709246656, E-mail: yangyanl@fmmu.edu.cn.

收稿日期: 2022-12-03, 接受日期: 2023-02-06

(Huntington's disease, HD)、中风 (stroke) 和创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI)^[17-19] 等多种神经系统疾病的发生发展均与线粒体结构与功能障碍密切相关, 通过恢复线粒体稳态以纠正神经系统功能异常已成为前沿研究及临床治疗的热点问题。

1 靶向线粒体治疗神经系统疾病的5种主要策略

目前, 靶向线粒体治疗神经系统疾病的策略主要涉及以下5个方面 (表1): a. 基于线粒体氧化应激致神经系统损伤的机制, 使用对抗线粒体氧化应激或增强抗氧化应激的药物^[20-24], 如MitoQ和十二烷酸 (decanonic acid) 等, 用于治疗AD和肌萎缩

侧索硬化 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS); b. 基于线粒体过分裂增多致线粒体损伤进而引起神经系统稳态失衡的机制, 使用抑制线粒体分裂或融合的药物^[25-26], 如Mdivi-1等, 用于治疗AD和PD; c. 基于线粒体产生不足导致神经系统损伤而使用增加线粒体产生的药物^[27-28], 如三环吡酮和线粒体相关蛋白质拮抗剂1 (dynamin-related protein antagonist 1) 等, 治疗AD和HD; d. 使用线粒体保护分子^[29-33], 如致酮分子 (ketogenic molecules) BHB (d- β -hydroxybutyrate) 直接治疗AD、PD、ALS; e. 使用胰岛素增敏剂 (insulin sensitizers)^[34-35] 二甲双胍 (metformin) 促进线粒体功能恢复以及促进脑能量生成, 从而治疗AD和HD。

Table 1 Five strategies of mitochondria-targeted treatment for neurological diseases

表1 靶向线粒体治疗神经系统疾病的5种主要策略

策略	采用药物	治疗疾病或缓解损伤	参考文献
1. 抗氧化应激	CP2 (刺激AMPK)	减少了有缺陷线粒体数量, 改善轴突运输, 增加脑源性神经营养因子 (BDNF) 和突触蛋白水平, 有效缓解AD小鼠行为学表现	[20]
	C10	增加线粒体呼吸功能, 提高癫痫小鼠发作阈值	[21]
	MitoQ	减少ROS产生, 缓解氧化应激, 改善空间记忆功能, 纠正AD早期行为学异常	[22]
		减少ROS产生, 改善ALS小鼠脊髓和股四头肌中线粒体呼吸功能	[23]
		改善了线粒体形态, 恢复了线粒体电子传递链 (ETC) 复合物的活性, 缓解脊髓小脑性共济失调1型 (SCA1) 小鼠共济失调	[24]
2. 抑制线粒体分裂	mdivi-1	减轻线粒体过度分裂, 改善AD小鼠突触抑制、 β 淀粉样蛋白沉积与认知障碍	[25]
		减轻线粒体过度分裂, 减轻PD小鼠神经退行性变, 改善运动功能恢复	[26]
3. 增加线粒体生物发生	CP2 (三环吡酮)	增加mtDNA数量, 增加线粒体复合物I的活性, 降低AD小鼠 β 淀粉样蛋白和磷酸化蛋白的水平, 改善AD小鼠认知功能	[27]
	DA1	抑制了线粒体碎片化和mtDNA的损伤, 改善HD转基因小鼠的行为缺陷和神经病理表型	[28]
4. 线粒体保护	烟酰胺核苷	减少线粒体损伤和线粒体氧化应激, 缓解了AD小鼠认知障碍	[29]
		改善线粒体OXPHOS, 增加ATP产生, 保护运动神经元, 延迟ALS小鼠运动症状的发生	[30]
	致酮分子BHB	通过保护线粒体结构, 减少 β 淀粉样蛋白诱导的异常神经元活动, 改善AD小鼠神经元能量供应不足	[31]
		改善线粒体复合体II活性, 增强线粒体OXPHOS功能, 缓解了PD小鼠神经退行性变	[32]
5. 胰岛素增敏剂		显著改善线粒体呼吸功能, 恢复脊髓能量代谢, 保护了脊髓运动神经元, 缓解了ALS小鼠运动障碍	[33]
	二甲双胍 (metformin)	通过增强胰岛素信号通路, 增强了神经元线粒体对葡萄糖的利用, 改善AD小鼠淀粉样蛋白沉积	[34]
		增强胰岛素信号通路, 增强线粒体对葡萄糖的利用, 改善HD小鼠早期皮层网格功能障碍和行为改变	[35]

2 线粒体移植治疗神经系统疾病的研究进展

与此同时, 线粒体移植 (mitochondrial

transplantation) 通过补充健康线粒体修复神经系统被认为在治疗神经系统疾病方面具有巨大潜能, 受到越来越大的关注。线粒体移植是将外源性健康线粒体以直接或间接方式移植进入受损机体, 通过改

善神经系统呼吸功能进而修补受损神经系统, 最终达到改善和治疗神经系统疾病的目的。线粒体移植最早并非用于神经系统疾病。1982年, Clark 和 Shay^[36] 首次尝试从对两种抗生素(氯霉素和埃夫拉肽素)具有抗药性的细胞中纯化线粒体, 然后将其与对此两种抗生素不具有抗药性的细胞共孵育, 结果发现, 受体细胞获得了对以上两种抗生素的耐药性, 由此开启了利用线粒体移植治疗各类疾病的新篇章。迄今为止, 关于线粒体移植治疗临床疾病的最具震撼性研究是2017年, 美国波士顿儿童医

院首次对5名依赖体外膜氧合支持(extracorporeal membrane oxygenation support, ECMO支持)的严重心肌缺血再灌注(ischemia-reperfusion injury)患儿, 将其自体腹直肌分离提纯线粒体进行心脏直接注射^[37], 术后2名患儿先后死亡, 但是3名患儿成功脱离ECMO并生存良好。

本文系统回顾了PUBMED上正式报道的线粒体移植治疗神经系统疾病的所有研究, 共搜索到26篇密切相关参考文献(图1)。

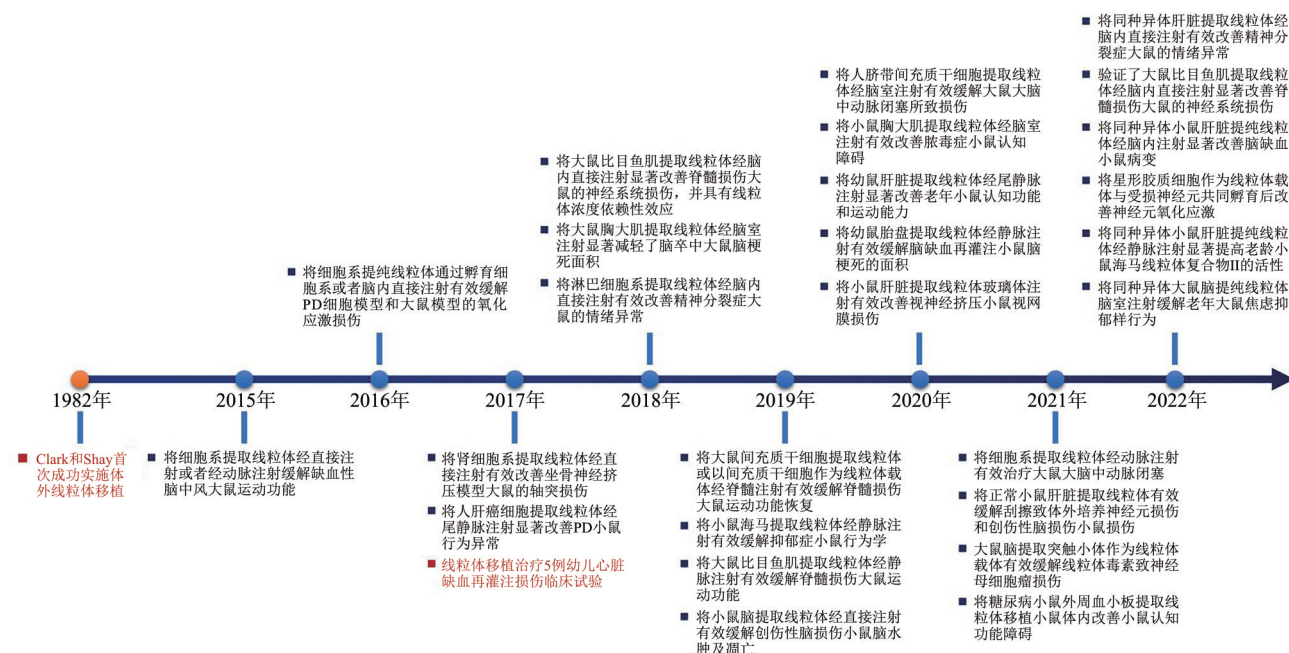


Fig. 1 Major research reports and history of mitochondrial transplantation in the treatment of neurological disorders

图1 线粒体移植治疗神经系统疾病的主要研究报道及历程

根据在体与体外两种水平将以上线粒体移植研究分为两大类型。

2.1 线粒体移植治疗神经系统疾病的在体研究

2.1.1 线粒体移植治疗神经系统疾病的类型

目前报道线粒体在体移植能够有效治疗的神经系统模型包括11种(表2): 大脑中动脉闭塞脑缺血再灌注模型^[38-42]、局灶性脑缺血模型^[43]、创伤性脑损伤模型^[44-45]、精神分裂症模型^[46-47]、抑郁症模型^[48]、糖尿病认知功能障碍模型^[49]、PD模型^[50]、老年小鼠^[51-53]、脓毒症模型^[54]、神经挤压模型^[55-56]及脊髓损伤模型^[57-59]。由此可见, 线粒体移植报道最多的领域是缺血及损伤类动物模型。

考虑推测当中枢神经系统发生缺血或损伤时, 动物局部应对危机的大量系统开始启动应激以展开自我保护程序, 此时原有的线粒体数量已经不能满足脑和脊髓迅速增加的紧急需求, 因此出现线粒体能量合成不足、钙稳态失衡、神经元突触可塑性受损, 从而导致神经系统无法有效纠正能量危机, 最终引起神经元网络全面中断。此时早期给予外源性线粒体补充, 能够快速有效纠正线粒体数量不足与功能缺陷, 特别对能量合成、钙稳态, 以及突触可塑性具有重要的改善作用, 最终通过挽救神经系统的能量危机, 使神经系统恢复重要功能。

Table 2 Research of mitochondrial transplantation in the treatment of neurological diseases *in vivo*

表2 线粒体移植治疗神经系统疾病的在体研究

序号	移植线粒体的来源 直接移植/间接移植	线粒体移植方式	动物神经系 统疾病模型	线粒体移 植起效 时间	是否改善神经系统疾病	是否进行线粒体功能 测定	参考 文献
1	直接移植： 源自小鼠脑神经瘤 细胞和神经干细胞 的提纯线粒体	单次颈内动脉注射： 线粒体蛋白质含量 180~200 μg	大脑中动脉 闭塞脑缺血 再灌注大鼠 模型	24 h之内	恢复线粒体膜电位水平和线 粒体形态学特点，改善了大 鼠神经行为学缺陷，减少了 梗死面积	电镜检测了线粒体形 态学 JC-1探针结合流式细胞 仪及共聚焦显微镜检测 了线粒体膜电位水平 DCF探针结合流式细胞 仪检测了ROS水平	2021年 ^[42]
2	直接移植： 源自人脐带间充质 干细胞的提纯线 粒体	单次脑室注射： 细胞数量 3×10^7 ， 注射剂量10 μl	大脑中动脉 闭塞脑缺血 再灌注大鼠 模型	24 h	通过恢复线粒体膜电位水平， 改善了大鼠运动功能，减少 了梗死面积	JC-1探针结合荧光显微 镜检测了线粒体膜电位 水平	2020年 ^[38]
3	直接移植： 源自自体胸大肌的 提纯线粒体	单次脑室注射： 线粒体数量 5×10^6 ，注射剂量10 μl	大脑中动脉 闭塞脑缺血 再灌注大鼠 模型	28 d	通过增加线粒体生成ATP水 平，改善了大鼠运动功能， 减少了梗死面积	ELISA检测了ATP水平 Mito-tracker探针结合共 聚焦显微镜验证了移植 线粒体进入受损脑组织	2018年 ^[41]
4	直接移植： 源自BHK-21肾细胞 系的提纯线粒体	单次股动脉注射： 线粒体蛋白质含量 750 μg	大脑中动脉 闭塞脑缺血 再灌注大鼠 模型	7 d	纠正了线粒体形态异常，增 加了线粒体呼吸功能，改善 了大鼠神经行为学缺陷，减少 了梗死面积	电镜检测了线粒体形 态学 酶标仪检测了线粒体氧 耗率	2015年 ^[39]
5	直接移植： 源自同种异体小鼠 胎盘的提纯线粒体	单次静脉注射： 线粒体蛋白质含量 10 μg	大脑中动脉 闭塞脑缺血 再灌注小鼠 模型	2 h	增加了线粒体合成ATP水平 及纠正了线粒体膜电位异常， 减少了梗死面积	ELISA检测了ATP水平 JC-1探针结合流式细胞 仪检测了线粒体膜电位	2020年 ^[40]
6	直接移植： 源自同种异体小鼠 肝脏的提纯线粒体	单次脑内注射： 线粒体 2×10^7	局灶性脑缺 血小鼠模型	21 d	增加了线粒体ATP生成能力， 增强了线粒体复合物活性， 改善了局灶性脑缺血小鼠脑 内脱髓鞘病变，促进了运动 功能的恢复	ELISA法检测了线粒体 ATP水平 酶标法检测了线粒体复 合物的活性	2022年 ^[43]
7	直接移植： 源自同种异体小鼠 肝脏的提纯线粒体 和自体肌肉的提纯 线粒体	移植方式不详： 线粒体含量 ($1.2 \sim 1.4$) $\times 10^6$	创伤性脑损 伤小鼠模型	24 h以内	增强了线粒体复合物活性， 增加了线粒体生成ATP水平， 显著减少了脑内神经元凋亡， 改善了小鼠空间记忆功能， 缓解了小鼠的焦虑样情绪	酶标法检测了线粒体复 合体活性 ELISA检测了ATP水平	2021年 ^[44]
8	直接移植： 源自同种异体小鼠 脑的提纯线粒体	单次脑内注射： 线粒体含量 1.1×10^7	创伤性脑损 伤小鼠模型	72 h以内	缓解了线粒体膜电位异常， 减少了神经元凋亡和血脑屏 障损伤，缓解了小鼠脑水肿	Mitotracker结合流式检 测了线粒体膜电位水平	2019年 ^[45]
9	直接移植： 源自同种异体小鼠 肝脏的提纯线粒体	单次脑内注射： 线粒体含量 1.0×10^6	精神分裂症 大鼠模型	3 h以内	缓解了线粒体膜电位异常， 给予青春期精神分裂症大鼠 线粒体后该大鼠在成年时发 生精神分裂症的症状减轻	JC-1探针结合共聚焦显 微镜检测了线粒体膜电 位水平	2022年 ^[46]

续表2							
序号	移植线粒体的来源	线粒体移植方式	动物神经系统疾病模型	线粒体移植起效时间	是否改善神经系统疾病	是否进行线粒体功能测定	参考文献
10	直接移植: 源自淋巴细胞系的提取线粒体	单次脑内注射: 线粒体含量1.0×10 ⁶	精神分裂症大鼠模型	24 h以内	缓解了线粒体膜电位异常, 改善了小鼠的注意力缺陷行为	JC-1探针结合流式细胞仪及共聚焦显微镜检测了线粒体膜电位水平	2018年 ^[47]
11	直接移植: 源自同种小鼠海马的提取线粒体	单次静脉注射: 线粒体含量1 mg/kg	脂多糖抑郁症小鼠模型	24 h	纠正了线粒体膜电位异常, 改善了小鼠抑郁样行为, 减轻了小鼠的神经炎症和氧化应激	Mito-tracker探针结合共聚焦显微镜验证了移植线粒体进入受损脑组织 JC-1探针酶标法检测了线粒体膜电位水平	2019年 ^[48]
12	直接移植: 源自db糖尿病小鼠外周血小板提取的线粒体	单次静脉注射: 线粒体含量1×10 ⁵ 个	db糖尿病小鼠模型认知功能障碍	24 h以内	纠正了线粒体膜电位异常, 改善了db糖尿病小鼠认知功能障碍	JC-1探针结合流式细胞仪检测了线粒体膜电位水平	2020年 ^[49]
13	直接移植: 源自PC12细胞系和人骨肉瘤杂交细胞系提取的线粒体	单次脑内注射: 线粒体蛋白质1.05 mg	6-OHDA诱导PD大鼠模型	90 d	增强了线粒体氧化应激能力, 改善了大鼠运动功能	Mito-tracker探针结合共聚焦显微镜验证了移植线粒体进入受损脑组织	2016年 ^[50]
14	直接移植: 源自同种异体小鼠肝脏提取的线粒体	多次静脉注射: 间隔1 d, 共7次, 每次10~20 mg/kg线粒体	12月龄老年小鼠	14 d	增强了线粒体复合物功能, 改善了老龄小鼠的海马组织中线粒体复合体II蛋白亚单位的表达, 改善了老年小鼠记忆功能	WB检测线粒体复合物II蛋白表达水平, 证实其中线粒体复合体II蛋白亚单位表达水平增加	2022年 ^[52]
15	直接移植: 源自同种异体年轻大鼠脑提取的线粒体	侧脑室单次注射: 线粒体注射剂量10 μl	22月龄老年大鼠	14 d以内	增强了线粒体生成ATP水平, 缓解老年大鼠焦虑和抑郁样行为	测定线粒体膜电位和ATP水平	2022年 ^[53]
16	直接移植: 源自幼鼠肝脏提取的线粒体	多次静脉注射: 间隔1 d, 共5次, 每次5 mg/kg注射线粒体, 每只注射10 ⁷ 个线粒体	18月龄老年小鼠	10 d	减少了线粒体氧化应激损伤, 改善了老年小鼠的认知和运动能力	酶标法测定线粒体活性	2020年 ^[51]
17	直接移植: 源自异体小鼠胸大肌提取的线粒体	侧脑室单次注射: 线粒体数量4×10 ⁶ , 注射剂量5 μl	盲肠结扎穿刺脓毒症小鼠模型	24 h	纠正了线粒体膜电位异常, 改善了败血症患者的认知障碍	JC-1探针结合流式细胞仪检测了线粒体膜电位	2020年 ^[54]
18	直接移植: 源自异体大鼠肝脏细胞中提取的线粒体	玻璃体单次注射: 将5 μl线粒体溶液注入玻璃体	视神经挤压大鼠模型	24 h	增强了线粒体呼吸功能, 改善了视网膜的氧化代谢和电生理活性	用高分辨率呼吸仪评估线粒体氧化磷酸化水平	2020年 ^[55]
19	直接移植: 源自MitoGFP-BHK细胞系提取的线粒体	神经外膜单次注射: 将195 μg的线粒体在PBS中稀释, 最终体积为100 μl	坐骨神经挤压小鼠模型	7 d	减少了线粒体氧化应激, 促进了神经再生, 改善了小鼠神经行为及肌肉活动	荧光共聚焦显微镜显示移植线粒体的分布	2017年 ^[56]

续表2

序号	移植线粒体的来源	线粒体移植方式	动物神经系 统疾病模型	线粒体移 植起效 时间	是否改善神经系统疾病	是否进行线粒体功能 测定	参考 文献
20	直接移植： 源自骨髓间充质干 细胞提取的线粒体 间接移植： 骨髓间充质干细胞	直接移植： 骨髓间充质干细胞， 数量1×10 ⁶ ，共10 μl 间接移植： 骨髓间充质干细胞提 取线粒体，数量 3×10 ⁶ ； 单次脊髓直接注射	脊髓损伤大 鼠模型	42 d	减轻了线粒体氧化应激损伤，Mito-tracker探针定位移 大鼠运动能力恢复，神经元 凋亡减少	植线粒体的分布	2019年 ^[58]
21	直接移植： 源自同种大鼠双侧 比目鱼肌提取的线 粒体	单次颈内静脉注射： 线粒体蛋白质含量： 100 μg	脊髓损伤 大鼠模型	7 d	减少了受损脊髓内质网-线粒 体氧化应激损伤，减少神经 细胞凋亡，改善小鼠运动 功能	Mito-tracker探针定位移 植线粒体的分布	2022年 ^[59]
22	直接移植： 源自tGFP-PC12细 胞系及同种大鼠比目 鱼肌提取的线粒体	单次脑室内注射： 线粒体蛋白质含量： 50 μg、100 μg、 150 μg	L1/L2挫伤性 脊髓损伤大 鼠模型	24 h	显著维持了氧耗率	细胞代谢动态分析仪测 定线粒体耗氧量	2018年 ^[57]

文献还可见线粒体移植能够治疗精神类疾病或者认知障碍类疾病动物模型。考虑到这些模型的制备也是用化学药物所诱导的情况，因此推测，线粒体移植治疗这类疾病的病理生理学基础也同样在于原有线粒体数量不能满足中枢神经系统损伤后大规模增加的能量需求，此时给予外源性线粒体能够解决该主要矛盾，从而产生有效结果。

目前尚未见线粒体移植治疗AD、HD的研究报道，这与这两类疾病已经有明确线粒体参与机制的现状相矛盾。这一方面可能在于线粒体移植研究仅在有限的实验室开展实施，另一方面可能在于目前使用的AD和HD小鼠模型多为转基因小鼠，该小鼠的神经系统能量危机可能现于最早期，之后由于无有效缓解途径从而发生了更为复杂的次级灾害。也就意味着，如果能够在早期利用线粒体移植可能还有挽救神经系统损伤的机会，而到疾病成熟阶段再单纯使用补充线粒体的办法可能已经无法纠正神经系统广泛的功能异常。令人遗憾的是，目前尚无法获得线粒体移植的时间窗口，因此，推测未来在该领域的尝试也将非常艰难。

2.1.2 线粒体移植的方式

根据移植线粒体的来源可将以上研究中采用的线粒体移植方式分为直接移植和间接移植两种。直接移植是指移植的是线粒体本身，间接移植是指移植携带线粒体的其他载体。用于直接移植的线粒体

来源包括3种，分别是各细胞系、人脐带间充质干细胞以及同种异体组织。其中，组织来源线粒体取自于骨骼肌、胎盘、肝脏、脑、血小板等5种类型。在体研究中仅有1例采用骨髓间充质干细胞^[58]作为线粒体载体实施移植。以上线粒体直接移植能够发挥有效治疗作用的结果充分证实，具有独立双层膜结构的线粒体可不需要特殊载体或细胞携带而作为单独功能性单元进行移植操作，这为未来线粒体移植治疗各类型疾病提供了实验室依据。同时，来源相异的线粒体可以发挥相似治疗效应的结果也提示，未来进行线粒体移植治疗神经系统疾病时，线粒体来源是否来自于神经系统这一点不需进行重点关注，而更应关注于移植使用的线粒体的数量是否足够以及结构是否均一。

从目前结果判断，胎盘来源的线粒体可能在人类线粒体移植中具有最重要意义。2022年12月Minovia公司和以色列舍巴医疗中心的研究人员合作^[60]，在*Science Translational Medicine*发表了一篇封面论文。该研究首先将胎盘来源健康线粒体移植到单个大规模线粒体DNA缺失综合征（SLSMD）患儿的CD34⁺造血干细胞，进行线粒体扩增，然后将扩增的造血干细胞回输给患儿。单个大规模线粒体DNA缺失综合征（SLSMD）会导致多种毁灭性疾病，包括Pearson综合征（PS）和Kearns-Sayre综合征（KSS），这些线粒体疾病是散

发的, 目前尚无法治愈, 并最终导致患者死亡。前者通常在婴儿期发病, 并导致一半患者死于婴儿期或儿童期, 而幸存者通常会发展为后者, 成为一种进行性多系统疾病, 伴随着视力、听力障碍、心脏疾病、胃肠道障碍、痴呆、肌肉无力, 直至死亡。而在该项研究中, 6名接受治疗的患儿中, 4名患儿的外周血异质性下降, 所有6名患儿在治疗后6~12个月时外周血细胞线粒体DNA含量的增加, 2名患儿在治疗后有氧功能改善, 治疗前体重非常低的6名患儿中有5名体重增加; 而且这项治疗具有良好的安全性和耐受性。结合该项报道及现有研究结果推测, 胎盘来源线粒体移植可能是未来线粒体移植治疗神经系统疾病的首选策略。

线粒体移植入体内的方式包括6种(表2): 动脉注射(颈内动脉和股动脉)、脑室注射、静脉注射、玻璃体注射、神经外膜注射、脊髓注射。注射的次数不一, 有单次注射, 也有连续注射多次。注射的线粒体含量不一, 以线粒体蛋白质为计数单位的注射剂量报道中最小100 μg绝对量或1 mg/kg相对量, 最大750 μg绝对量或5 mg/kg相对量。以线粒体数量为计数单位的注射剂量大约 $1\times10^6\sim1\times10^7$ 。以上结果可见, 脑室内注射一般进行一次即可见效, 而血管内注射通常需要多次注射才能起效。说明, 线粒体从循环系统进入中枢神经系统需要耗时更长, 中间损耗情况更为严重。这为未来线粒体移植的具体策略提供了思路。

线粒体移植后发挥治疗或者改善效果的时程在报道中差异很大, 短的有2 h, 长的有90 d。移植后的效果均为减轻动物的疾病程度(表2)。研究多用线粒体探针MitoTracker验证线粒体是否进入体内(表2)。部分研究证实了线粒体功能的好转(表2)。考虑到线粒体移植产生效果的证据是神经系统的氧化应激得到缓解、能量合成得到补充、神经元突触传递得到改善, 而这些指标的恢复或者改善都需要神经系统运行稳定后才能够显示出来, 因此推测, 线粒体移植到达靶区后, 可能立即发挥能量合成、调控钙稳态以及稳定突触可塑性的功能。如果此时原有线粒体伤亡较小, 新移植线粒体的补给就可以完全纠正原有损伤, 结果表现为发挥效应; 若此时原有线粒体伤亡较大, 新移植线粒体的补给尚不能完全纠正原有损伤, 结果表现为尚未发挥效应。对于后一种情况, 推测随着时间推移, 新移植线粒体可通过分裂以产生新鲜线粒体, 或通过

过数量充分的正常线粒体的补充, 最终发挥缓解疾病的效应。因此, 未来研究中, 应加强对线粒体移植后早、中、晚期等不同阶段线粒体动力学、线粒体发生相关分子群的检测, 勾勒出移植线粒体在体内的修复路径与分子事件, 从而为精准实施线粒体移植提供分子工具。

同时, 以上结果提示, 线粒体移植在体治疗的实验方案尚存在较大分歧, 后续关于线粒体质量控制等方案的规范化探索将成为重要的研究方向。

2.2 线粒体移植治疗神经系统疾病的体外研究

目前有3篇研究报道了线粒体移植对体外培养神经元的保护效应。将源自大鼠新鲜大脑提取的突触小体作为线粒体传递系统与CCCP或鱼藤酮处理的LAN5细胞系共培养^[61], JC-1探针结合流式细胞仪证实细胞线粒体膜电位水平恢复; 将源自间充质干细胞的提取线粒体与小鼠原代培养皮层神经元共培养^[62], 能够改善氧化应激致神经元损伤; 将源自人肝癌细胞提取的线粒体与人神经瘤母细胞系共培养^[63], 能够改善MPP⁺致神经元氧化应激损伤。

以上体外研究结合在体研究证实, 线粒体移植能够有效阻断各种应激所致神经系统损伤的节奏, 有望为神经系统功能恢复赢得宝贵的时间。

3 线粒体移植治疗疾病的生物学机制

无论是线粒体直接移植还是以突触体或星形胶质细胞作为载体的间接移植, 无论是经脑内注射还是经静脉/动脉注射, 健康线粒体最终要发挥效应都需要其能够进入到受损神经元内部, 即神经元能够“吞噬”健康线粒体。迄今为止, 共发现线粒体进入细胞的两种生物学机制(表3): 隧道纳米管(tunneling nanotubes, TNTs)和细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)。

Tabel 3 Biological mechanisms of mitochondrial transplantation
表3 线粒体移植的生物学机制

序号	机制	来源	直径	参考文献
1	隧道纳米管	细胞 线粒体 内质网	50~200 nm	[64]
2	外泌体	细胞	30~100 nm	[65]
3	微泡		100 nm~1 μm	[66]
4	凋亡小体		1~2 μm	[67]

3.1 隧道纳米管 (TNTs)

TNTs 特指直径在 50~200 nm 的狭细通道, 以肌动蛋白为结构基础, 呈现丝状伸展, 可发源于细胞、线粒体或内质网等各种膜性结构。线粒体 TNTs 是线粒体发出的纤细管状结构, 可与毗邻线粒体形成物理性接触, 允许多种分子进行单向或双向传输, 以单向为主^[66]。目前观察到间充质干细胞来源的线粒体可经 TNTs 进入气道上皮细胞^[67], 还可见心肌细胞来源线粒体经 TNTs 进入内皮祖细胞^[68], 以及神经元内线粒体经 TNTs 转移到星形胶质细胞^[69]。以 TNTs 为桥梁的线粒体移植被证明可以改善多个线粒体活性参数, 包括 ATP 水平、线粒体膜电位、线粒体耗氧量。基于 TNTs 的线粒体移植在缺血再灌注损伤^[70]、肾小管细胞分化^[71]及肿瘤^[72]中得到了证实。目前认为, 细胞外蛋白 S100A4^[73] 及其受体高级糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end product, RAGE)、黏连蛋白 connexin 43 (Cx43)^[74]、线粒体受体蛋白 1 (mitochondrial receptor protein, Miro1) 等^[75] 分子以及 Ras 不依赖的鸟嘌呤核苷酸交换因子 (Ras-independent guanine nucleotide exchange factor for RalA GTPase, RalGPS2) -Akt-PDK1 等^[76] 通路参与了 TNTs 的形成与维持。

3.2 细胞外囊泡 (EVs)

EVs 是由细胞释放到外部环境的膜性囊泡, 其内部含有蛋白质、脂类和核苷酸, 参与细胞间通讯。根据直径大小不同将 EVs 分为 3 类: 直径 30~100 nm 的外泌体 (exosomes), 直径 100 nm~1 μ m 的微泡 (microvesicles) 以及直径 1~2 μ m 的凋亡小体 (apoptotic body)^[65]。有报道骨髓间充质干细胞来源的线粒体通过外泌体促进线粒体生物生成进而改善骨关节炎^[77]。Spees 等^[78] 首次应用荧光标记法观察到人间充质干细胞分泌含有线粒体的微泡到培养液中, 被受体细胞吞噬; 另有证据表明, 受损细胞从微泡中获得功能性线粒体^[79-80]。目前关于凋亡小体参与线粒体移植尚未见报道。

无论是通过隧道纳米管机制还是通过细胞外囊泡机制, 外源性线粒体要进入细胞内部都必然会发生胞膜与线粒体外膜的接触, 接触后的线粒体还要与胞膜结构发生解离后才能成为胞质内独立单元, 而在以上接触与解离生物学事件中是否存在特异性分子的相互识别目前尚无定论, 这也将成为未来该领域的研究热点与前沿。

4 线粒体移植治疗神经系统疾病尚需解决的关键问题

4.1 线粒体来源

前已述及, 目前报道的用于线粒体移植的线粒体来源非常丰富, 包括细胞系、人脐带间充质干细胞以及同种异体组织, 组织来源包括骨骼肌、胎盘、肝脏、脑、血小板等。说明在此方面尚无共识, 更导致未来研究中对于评估线粒体移植的效应方面缺少统一标准, 这是急需解决的关键问题之一。前已述及, 胎盘来源线粒体可能在临床应用中具有重大潜力。

4.2 线粒体移植方式及数量

前已述及, 线粒体移植入体内的方式包括: 动脉注射、脑室注射、静脉注射、玻璃体注射、神经外膜注射、脊髓注射。注射次数包括有单次注射或多次注射。注射线粒体有以线粒体蛋白质为计数单位, 也有以线粒体密度为计数单位, 且所用数量均无统一标准。值得注意的是, 2018 年在大鼠脊髓损伤线粒体移植研究中报道^[57], 移植后的缓解效应与移植的线粒体浓度之间存在显著正相关性, 即线粒体输注越多, 效果越好。因此提示, 线粒体移植中采用的方式及线粒体数量是未来研究中急需解决的关键问题之一。前已述及, 直接注射较间接移植效率更高, 所需线粒体数量更为经济。

4.3 线粒体的储存

线粒体虽然是一个具有双层膜结构的独立细胞器, 但其对刺激非常敏感, 研究证实, 线粒体储存于冷藏或冷冻状态超过 1 h, 其外膜和内膜就会发生损伤^[81], 导致线粒体氧化磷酸化功能及 ATP 供应能力显著下降, 甚至出现线粒体膜通透性及死亡。因此, 进行线粒体移植时安全有效保存线粒体就格外重要。Gnaiger 等^[82] 认为, 将线粒体冷藏在以 HEPES-蔗糖为基础的缓冲液中可有效保证线粒体具有较好呼吸功能, 且能够维持 24 h, 但是最长不能超过 2 d。有报道比较了将线粒体保存于 4℃ 的进行人体器官移植时使用的 University of Wisconsin 缓冲液与 Eurocollins 缓冲液^[83], 结果表明, 在维持肝脏线粒体复合物 II 的活性方面, University of Wisconsin 缓冲液优于 Eurocollins 缓冲液。Greiff 等^[84] 观察到将线粒体储存于 -65℃ 的 10% 二甲亚砜 (DMSO) 中 18 d 或 -65℃ 的 10% 甘油中 15 d, 线粒体氧化磷酸化能力能够很好维持; Nukakla 等^[85] 进一步利用电镜证实 -65℃ 的 10% DMSO 中

的脑源性线粒体内膜和外膜完整。未来有必要针对线粒体的储存进一步优化方案。

4.4 免疫反应

线粒体移植虽然被证明具有治疗效果,但是异源性线粒体是否引发机体的免疫反应尚无定论。

部分研究认为不存在免疫反应。支持该结论的研究包括:2017年波士顿儿童医院团队^[37]在实施患儿线粒体移植治疗严重心脏病时,观察了免疫反应,未见移植后TNF α 、IL-6和高敏感性C反应蛋白等炎症标志物升高,也未检测到抗线粒体抗体;2017年,Kaza等^[86]将自体线粒体移植到猪缺血再灌注模型后,将血清细胞因子水平作为移植后免疫反应指标,也未观察到其升高;2019年,Ramirez-Barbieri等^[87]将同种异体线粒体单次或多次注射入小鼠腹腔,未见炎症细胞因子升高。

但是,也存在相反观点。2018年,Pollara等^[88]观察到接受线粒体移植后小鼠体内炎症因子增高;2019年,Lin等^[89]报道线粒体可以激活血管内皮细胞产生炎症因子,接受线粒体移植的小鼠心脏出现显著免疫排斥反应。

5 展 望

由于线粒体移植治疗神经系统疾病在不到十年的时间里取得了较大成效,并且其操作较为简单,因此被认为有巨大临床应用价值。本篇综述预测,未来研究将陆续揭示线粒体移植中的线粒体质量控制策略及其分子和细胞机制,并且将形成线粒体移植的临床规范化诊疗方案。

参 考 文 献

- [1] Gollihue J L, Rabchevsky A G. Prospects for therapeutic mitochondrial transplantation. *Mitochondrion*, 2017, **35**: 70-79
- [2] Tait S W, Green D R. Mitochondria and cell signalling. *J Cell Sci*, 2012, **125**(Pt 4): 807-815
- [3] Zhuang L, Jia K, Chen C, *et al*. DYRK1B-STAT3 drives cardiac hypertrophy and heart failure by impairing mitochondrial bioenergetics. *Circulation*, 2022, **145**(11): 829-846
- [4] Lopez-Crisosto C, Pennanen C, Vasquez-Trincado C, *et al*. Sarcoplasmic reticulum-mitochondria communication in cardiovascular pathophysiology. *Nat Rev Cardiol*, 2017, **14**(6): 342-360
- [5] Beaulant A, Dia M, Pillot B, *et al*. Endoplasmic reticulum-mitochondria miscommunication is an early and causal trigger of hepatic insulin resistance and steatosis. *J Hepatol*, 2022, **77**(3): 710-722
- [6] Tysoe O. Macrophage mitochondrial levels of iron affect adipose tissue function in obesity. *Nat Rev Endocrinol*, 2023, **19**(1): 3
- [7] Fromenty B, Roden M. Mitochondrial alterations in fatty liver diseases. *J Hepatol*, 2022, **78**(2): 415-429
- [8] Mukha D, Fokra M, Feldman A, *et al*. Glycine decarboxylase maintains mitochondrial protein lipoylation to support tumor growth. *Cell Metab*, 2022, **34**(5): 775-782
- [9] Momcilovic M, Jones A, Bailey S T, *et al*. *In vivo* imaging of mitochondrial membrane potential in non-small-cell lung cancer. *Nature*, 2019, **575**: 380-384
- [10] Raggi C, Taddei M L, Sacco E, *et al*. Mitochondrial oxidative metabolism contributes to a cancer stem cell phenotype in cholangiocarcinoma. *J Hepatol*, 2021, **74**(6): 1373-1385
- [11] Tang C, Cai J, Yin X M, *et al*. Mitochondrial quality control in kidney injury and repair. *Nat Rev Nephrol*, 2021, **17**(5): 299-318
- [12] Nicholls D G, Budd S L. Mitochondria and neuronal survival. *Physiol Rev*, 2000, **80**(1): 315-360
- [13] Zhu X H, Qiao H, Du F, *et al*. Quantitative imaging of energy expenditure in human brain. *Neuroimage*, 2012, **60**(4): 2107-2117
- [14] Cunnane S C, Trushina E, Morland C, *et al*. Brain energy rescue: an emerging therapeutic concept for neurodegenerative disorders of ageing. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, **19**(9): 609-633
- [15] Hubley M J, Locke B R, Moerland T S. The effects of temperature, pH, and magnesium on the diffusion coefficient of ATP in solutions of physiological ionic strength. *Biochim Biophys Acta*, 1996, **1291**(2): 115-121
- [16] Sun T, Qiao H, Pan P Y, *et al*. Motile axonal mitochondria contribute to the variability of presynaptic strength. *Cell Rep*, 2013, **4**(3): 413-419
- [17] Schapira A H. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Neurochem Res*, 2008, **33**(12): 2502-2509
- [18] De Moura M B, Dos Santos L S, Van Houten B. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases and cancer. *Environ Mol Mutagen*, 2010, **51**(5): 391-405
- [19] Johnson J, Mercado-Ayon E, Mercado-Ayon Y, *et al*. Mitochondrial dysfunction in the development and progression of neurodegenerative diseases. *Arch Biochem Biophys*, 2021, **702**: 108698
- [20] Flannery P J, Trushina E. Mitochondrial dynamics and transport in Alzheimer's disease. *Mol Cell Neurosci*, 2019, **98**: 109-120
- [21] Tan K N, Carrasco-Pozo C, McDonald T S, *et al*. Tridecanoin is anticonvulsant, antioxidant, and improves mitochondrial function. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, **37**(6): 2035-2048
- [22] Mcmanus M J, Murphy M P, Franklin J L. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ prevents loss of spatial memory retention and early neuropathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2011, **31**(44): 15703-15715
- [23] Miquel E, Cassina A, Martinez-Palma L, *et al*. Neuroprotective effects of the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ in a model of inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Free Radic Biol Med*, 2014, **70**: 204-213
- [24] Stucki D M, Rueggsegger C, Steiner S, *et al*. Mitochondrial impairments contribute to spinocerebellar ataxia type 1

- progression and can be ameliorated by the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ. *Free Radic Biol Med*, 2016, **97**: 427-440
- [25] Baek S H, Park S J, Jeong J I, *et al.* Inhibition of Drp1 ameliorates synaptic depression, abeta deposition, and cognitive impairment in an Alzheimer's disease model. *J Neurosci*, 2017, **37**(20): 5099-5110
- [26] Bido S, Soria F N, Fan R Z, *et al.* Mitochondrial division inhibitor-1 is neuroprotective in the A53T-alpha-synuclein rat model of Parkinson's disease. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 7495
- [27] Zhang L, Zhang S, Maezawa I, *et al.* Modulation of mitochondrial complex I activity averts cognitive decline in multiple animal models of familial Alzheimer's Disease. *EBioMedicine*, 2015, **2**(4): 294-305
- [28] Zhao Y, Sun X, Hu D, *et al.* ATAD3A oligomerization causes neurodegeneration by coupling mitochondrial fragmentation and bioenergetics defects. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 1371
- [29] Tefera T W, Wong Y, Barkl-Luke M E, *et al.* Triheptanoin protects motor neurons and delays the onset of motor symptoms in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One*, 2016, **11**(8): e0161816
- [30] Butterfield D A, Halliwell B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci*, 2019, **20**(3): 148-160
- [31] Zilberter M, Ivanov A, Ziyatdinova S, *et al.* Dietary energy substrates reverse early neuronal hyperactivity in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2013, **125**(1): 157-171
- [32] Tieu K, Perier C, Caspersen C, *et al.* D-β-Hydroxybutyrate rescues mitochondrial respiration and mitigates features of Parkinson disease. *J Clin Invest*, 2003, **112**(6): 892-901
- [33] Zhao W, Varghese M, Vempati P, *et al.* Caprylic triglyceride as a novel therapeutic approach to effectively improve the performance and attenuate the symptoms due to the motor neuron loss in ALS disease. *PLoS One*, 2012, **7**(11): e49191
- [34] Arnoux I, Willam M, Griesche N, *et al.* Metformin reverses early cortical network dysfunction and behavior changes in Huntington's disease. *Elife*, 2018, **7**: e38744
- [35] Ou Z, Kong X, Sun X, *et al.* Metformin treatment prevents amyloid plaque deposition and memory impairment in APP/PS1 mice. *Brain Behav Immun*, 2018, **69**: 351-363
- [36] Clark M A, Shay J W. Mitochondrial transformation of mammalian cells. *Nature*, 1982, **295**(5850): 605-607
- [37] Emani S M, Piekarski B L, Harrild D, *et al.* Autologous mitochondrial transplantation for dysfunction after ischemia-reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2017, **154**(1): 286-289
- [38] Pourmohammadi-Bejarpasi Z, Roushandeh A M, Saberi A, *et al.* Mesenchymal stem cells-derived mitochondria transplantation mitigates I/R-induced injury, abolishes I/R-induced apoptosis, and restores motor function in acute ischemia stroke rat model. *Brain Res Bull*, 2020, **165**: 70-80
- [39] Huang P J, Kuo C C, Lee H C, *et al.* Transferring xenogenic mitochondria provides neural protection against ischemic stress in ischemic rat brains. *Cell Transplant*, 2016, **25**(5): 913-927
- [40] Nakamura Y, Lo E H, Hayakawa K. Placental mitochondria therapy for cerebral ischemia-reperfusion injury in mice. *Stroke*, 2020, **51**(10): 3142-3146
- [41] Zhang Z, Ma Z, Yan C, *et al.* Muscle-derived autologous mitochondrial transplantation: a novel strategy for treating cerebral ischemic injury. *Behav Brain Res*, 2019, **356**: 322-331
- [42] Xie Q, Zeng J, Zheng Y, *et al.* Mitochondrial transplantation attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury: possible involvement of mitochondrial component separation. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, **2021**: 1006636
- [43] Chen T, Zhu Y, Jia J, *et al.* Mitochondrial transplantation promotes remyelination and long-term locomotion recovery following cerebral ischemia. *Mediators Inflamm*, 2022, **2022**: 1346343
- [44] Zhao J, Qu D, Xi Z, *et al.* Mitochondria transplantation protects traumatic brain injury via promoting neuronal survival and astrocytic BDNF. *Transl Res*, 2021, **235**: 102-114
- [45] Zhang B, Gao Y, Li Q, *et al.* Effects of brain-derived mitochondria on the function of neuron and vascular endothelial cell after traumatic brain injury. *World Neurosurg*, 2020, **138**: e1-e9
- [46] Ene H M, Karry R, Farfara D, *et al.* Mitochondria play an essential role in the trajectory of adolescent neurodevelopment and behavior in adulthood: evidence from a schizophrenia rat model. *Mol Psychiatry*, 2023, **28**(3): 1170-1181
- [47] Robicsek O, Ene H M, Karry R, *et al.* Isolated mitochondria transfer improves neuronal differentiation of schizophrenia-derived induced pluripotent stem cells and rescues deficits in a rat model of the disorder. *Schizophr Bull*, 2018, **44**(2): 432-442
- [48] Wang Y, Ni J, Gao C, *et al.* Mitochondrial transplantation attenuates lipopolysaccharide-induced depression-like behaviors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2019, **93**: 240-249
- [49] Ma H, Jiang T, Tang W, *et al.* Transplantation of platelet-derived mitochondria alleviates cognitive impairment and mitochondrial dysfunction in db/db mice. *Clin Sci (Lond)*, 2020, **134**(16): 2161-2175
- [50] Chang J C, Wu S L, Liu K H, *et al.* Allogeneic/xenogeneic transplantation of peptide-labeled mitochondria in Parkinson's disease: restoration of mitochondria functions and attenuation of 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. *Transl Res*, 2016, **170**: 40-56.e3
- [51] Zhao Z, Yu Z, Hou Y, *et al.* Improvement of cognitive and motor performance with mitotherapy in aged mice. *Int J Biol Sci*, 2020, **16**(5): 849-858
- [52] Adlimoghaddam A, Benson T, Albensi B C. Mitochondrial transfusion improves mitochondrial function through up-regulation of mitochondrial complex II protein subunit SDHB in the hippocampus of aged mice. *Mol Neurobiol*, 2022, **59**(10): 6009-6017
- [53] Javani G, Babri S, Farajdokht F, *et al.* Mitochondrial transplantation improves anxiety- and depression-like behaviors in aged stress-exposed rats. *Mech Ageing Dev*, 2022, **202**: 111632
- [54] Yan C, Ma Z, Ma H, *et al.* Mitochondrial transplantation attenuates

- brain dysfunction in sepsis by driving microglial M2 polarization. *Mol Neurobiol*, 2020, **57**(9): 3875-3890
- [55] Nascimento-Dos-Santos G, De-Souza-Ferreira E, Lani R, *et al.* Neuroprotection from optic nerve injury and modulation of oxidative metabolism by transplantation of active mitochondria to the retina. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, **1866**(5): 165686
- [56] Kuo C C, Su H L, Chang T L, *et al.* Prevention of axonal degeneration by perineurium injection of mitochondria in a sciatic nerve crush injury model. *Neurosurgery*, 2017, **80**(3): 475-488
- [57] Gollihue J L, Patel S P, Eldahan K C, *et al.* Effects of mitochondrial transplantation on bioenergetics, cellular incorporation, and functional recovery after spinal cord injury. *J Neurotrauma*, 2018, **35**(15): 1800-1818
- [58] Li H, Wang C, He T, *et al.* Mitochondrial transfer from bone marrow mesenchymal stem cells to motor neurons in spinal cord injury rats *via* gap junction. *Theranostics*, 2019, **9**(7): 2017-2035
- [59] Fang S Y, Roan J N, Lee J S, *et al.* Transplantation of viable mitochondria attenuates neurologic injury after spinal cord ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2021, **161**(5): e337-e347
- [60] Jacoby E, Bar-Yosef O, Gruber N, *et al.* Mitochondrial augmentation of hematopoietic stem cells in children with single large-scale mitochondrial DNA deletion syndromes. *Sci Transl Med*, 2022, **14**(676): eabo3724
- [61] Picone P, Porcelli G, Bavisotto C C, *et al.* Synaptosomes: new vesicles for neuronal mitochondrial transplantation. *J Nanobiotechnology*, 2021, **19**(1): 6
- [62] Tseng N, Lambie S C, Huynh C Q, *et al.* Mitochondrial transfer from mesenchymal stem cells improves neuronal metabolism after oxidant injury *in vitro*: the role of Miro1. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, **41**(4): 761-770
- [63] Shi X, Zhao M, Fu C, *et al.* Intravenous administration of mitochondria for treating experimental Parkinson's disease. *Mitochondrion*, 2017, **34**: 91-100
- [64] Austefjord M W, Gerdes H H, Wang X. Tunneling nanotubes: diversity in morphology and structure. *Commun Integr Biol*, 2014, **7**(1): e27934
- [65] Zappulli V, Friis K P, Fitzpatrick Z, *et al.* Extracellular vesicles and intercellular communication within the nervous system. *J Clin Invest*, 2016, **126**(4): 1198-1207
- [66] Rustom A, Saffrich R, Markovic I, *et al.* Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science*, 2004, **303**(5660): 1007-1010
- [67] Li X, Zhang Y, Yeung S C, *et al.* Mitochondrial transfer of induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells to airway epithelial cells attenuates cigarette smoke-induced damage. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, **51**(3): 455-465
- [68] Koyanagi M, Brandes R P, Haendeler J, *et al.* Cell-to-cell connection of endothelial progenitor cells with cardiac myocytes by nanotubes: a novel mechanism for cell fate changes?. *Circ Res*, 2005, **96**(10): 1039-1041
- [69] Wang X, Bukoreshtliev N V, Gerdes H H. Developing neurons form transient nanotubes facilitating electrical coupling and calcium signaling with distant astrocytes. *PLoS One*, 2012, **7**(10): e47429
- [70] Liu K, Ji K, Guo L, *et al.* Mesenchymal stem cells rescue injured endothelial cells in an *in vitro* ischemia-reperfusion model *via* tunneling nanotube like structure-mediated mitochondrial transfer. *Microvasc Res*, 2014, **92**: 10-18
- [71] Plotnikov E Y, Khryapenkova T G, Galkina S I, *et al.* Cytoplasm and organelle transfer between mesenchymal multipotent stromal cells and renal tubular cells in co-culture. *Exp Cell Res*, 2010, **316**(15): 2447-2455
- [72] Moschoi R, Imbert V, Nebout M, *et al.* Protective mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to acute myeloid leukemic cells during chemotherapy. *Blood*, 2016, **128**(2): 253-264
- [73] Sun X, Wang Y, Zhang J, *et al.* Tunneling-nanotube direction determination in neurons and astrocytes. *Cell Death Dis*, 2012, **3**(12): e438
- [74] Tishchenko A, Azorín D D, Vidal-Brime L, *et al.* Cx43 and associated cell signaling pathways regulate tunneling nanotubes in breast cancer cells. *Cancers*, 2020, **12**(10): 2798
- [75] Las G, Shirihai O S. Miro1: new wheels for transferring mitochondria. *EMBO J*, 2014, **33**(9): 939-941
- [76] D'Aloia A, Arrigoni E, Costa B, *et al.* RalGPS2 Interacts with Akt and PDK1 promoting tunneling nanotubes formation in bladder cancer and kidney cells microenvironment. *Cancers*, 2021, **13**(24): 6330
- [77] Yang X, Yang J, Lei P, *et al.* LncRNA MALAT1 shuttled by bone marrow-derived mesenchymal stem cells-secreted exosomes alleviates osteoporosis through mediating microRNA-34c/SATB2 axis. *Aging (Albany NY)*, 2019, **11**(20): 8777
- [78] Spees J L, Olson S D, Whitney M J, *et al.* Mitochondrial transfer between cells can rescue aerobic respiration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(5): 1283-1288
- [79] Miliotis S, Nicolalde B, Ortega M, *et al.* Forms of extracellular mitochondria and their impact in health. *Mitochondrion*, 2019, **48**: 16-30
- [80] Morrison T J, Jackson M V, Cunningham E K, *et al.* Mesenchymal stromal cells modulate macrophages in clinically relevant lung injury models by extracellular vesicle mitochondrial transfer. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, **196**(10): 1275-1286
- [81] McCully J D, Cowan D B, Emani S M, *et al.* Mitochondrial transplantation: from animal models to clinical use in humans. *Mitochondrion*, 2017, **34**: 127-134
- [82] Gnaiger E, Kuznetsov A V, Schneeberger S, *et al.* Mitochondria in The Cold: Life in The Cold. Berlin, Heidelberg: Springer, 2000: 431-442
- [83] Jassem W, Armeni T, Quiles J L, *et al.* Protection of mitochondria during cold storage of liver and following transplantation: comparison of the two solutions. *J Bioenerg Biomembr*, 2006, **38**(1): 49-55
- [84] Greiff D, Myers M. Effect of dimethyl sulphoxide on the cryo-

- tolerance of mitochondria. *Nature*, 1961, **190**(4782): 1202-1204
- [85] Nukala V N, Singh I N, Davis L M, *et al.* Cryopreservation of brain mitochondria: a novel methodology for functional studies. *J Neurosci Methods*, 2006, **152**(1-2): 48-54
- [86] Kaza A K, Wamala I, Friebs I, *et al.* Myocardial rescue with autologous mitochondrial transplantation in a porcine model of ischemia/reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2017, **153**(4): 934-943
- [87] Ramirez-Barbieri G, Moskowitsova K, Shin B, *et al.* Alloreactivity and allorecognition of syngeneic and allogeneic mitochondria. *Mitochondrion*, 2019, **46**: 103-115
- [88] Pollara J, Edwards R W, Lin L, *et al.* Circulating mitochondria in deceased organ donors are associated with immune activation and early allograft dysfunction. *JCI Insight*, 2018, **3**(15): e121622
- [89] Lin L, Xu H, Bishawi M, *et al.* Circulating mitochondria in organ donors promote allograft rejection. *Am J Transplant*, 2019, **19**(7): 1917-1929

Strategies and Mechanisms of Mitochondrial Transplantation for Treating Neurological Diseases*

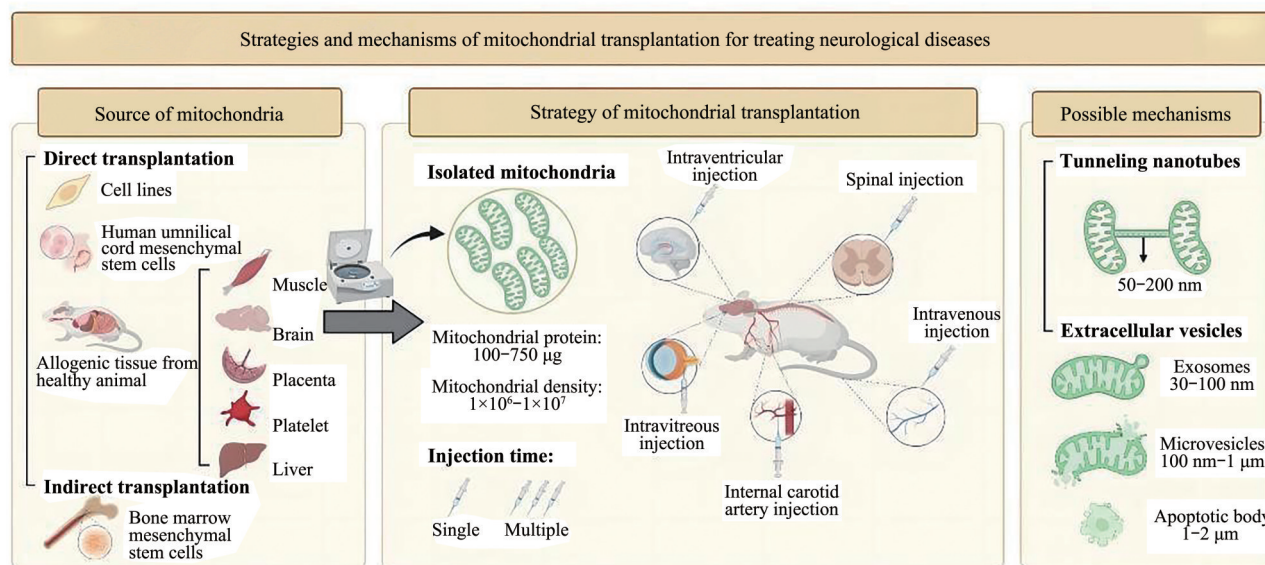
ZHENG Qian-Wen^{1,2)}, YANG Yan-Ling^{1)**}, WANG Ya-Yun^{2)**}

⁽¹⁾Hepatobiliary, Pancreatic and Splenic Surgery, Xi-Jing Hospital, The Air Force Medical University, Xi'an 710032, China;

²⁾Specific Lab for Mitochondrial Plasticity Underlying Nervous System Diseases,

National Demonstration Center for Experimental Preclinical Medicine Education, The Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

Graphical abstract



Abstract Mitochondria are responsible for cellular aerobic respiratory function. The nervous system is a huge energy consuming tissue of the body and highly depends on the structure and functional stability of mitochondria. Multiple research shows that mitochondrial abnormality is an essential reason for the occurrence and development of various neurological diseases. The mitochondria-targeted treatment for neurological disorders has become a frontier and hot spot. This review focuses on the research progress of mitochondrial transplantation in the treatment of various neurological diseases, mainly discussing its cellular and molecular mechanisms and the challenges which it faces, in order to provide clues and basis for clinical development of new therapeutic methods. There are 11 neurological models that have been reported to be effective for mitochondrial transplantation: middle cerebral artery occlusion cerebral ischemia reperfusion model, focal cerebral ischemia

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81870415), State Key Laboratory of Military Stomatology (2018 KA 01), Military Medicine Innovation Project (2019ZTC03, 16CXZ022), Key Research and Development Program of Shaanxi Province (2018JZ8003), and Xijing Hospital Science and Technology Promotion Program (XJZT19Z29).

** Corresponding author.

WANG Ya-Yun. Tel: 86-29-84712341, E-mail: wangyy@fmmu.edu.cn

YANG Yan-Ling. Tel: 86-13709246656, E-mail: yangyanl@fmmu.edu.cn.

Received: December 3, 2022 Accepted: February 6, 2023

model, traumatic brain injury model, schizophrenia model, depression model, diabetic cognitive dysfunction model, Parkinson's disease model, aging model, sepsis model, nerve compression model and spinal cord injury model. According to the source of transplanted mitochondria, the mitochondrial transplantation methods used in the above studies can be divided into direct transplantation and indirect transplantation. Direct transplantation refers to the transfer of mitochondria themselves, while indirect transplantation refers to the transfer of other carriers carrying mitochondria. There are three sources of mitochondria for direct transplantation: cell lines, human umbilical cord mesenchymal stem cells, and allografts. Mitochondria are derived from skeletal muscle, placenta, liver, brain and platelets. There are six methods of mitochondrial transplantation into the body: arterial injection, intraventricular injection, intravenous injection, vitreous injection, epineural injection, and spinal injection. The number of injections varies from a single injection to multiple injections in a row. The amount of mitochondria injected varied greatly. The duration of therapeutic or ameliorative effects after mitochondrial transplantation varied widely in reports. The effect after transplantation was to reduce the degree of disease in the animals. Biological mechanisms of mitochondrial transplantation consists of tunneling nanotubes (TNTs) and extracellular vesicles (EVs). And EVs are further classified into three categories according to their diameter size, including exosomes, microvesicles, and apoptotic body. The key issues to be addressed in mitochondrial transplantation for neurological diseases include: source of transplanted mitochondrial; pathway of mitochondrial transplantation; storage of the mitochondria; immune response. Mitochondrial transplantation has achieved great results in the treatment of neurological diseases in less than a decade, and it is considered to have great clinical value. This review predicts that future studies will gradually reveal mitochondrial quality control strategies and their molecular and cellular mechanisms in mitochondrial transplantation, and will form clinical standardized diagnosis and treatment plans for mitochondrial transplantation.

Key words mitochondrial, mitochondrial transplantation, nervous system, neurological diseases, nanochannels

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0552