

# 线粒体自噬机制、相关疾病及中药对其调节作用的研究进展<sup>△</sup>

李凤娇<sup>1,2\*</sup>, 顾雯<sup>1,2</sup>, 俞捷<sup>1,2</sup>, 董金材<sup>1,2</sup>, 王曦<sup>1,2</sup>, 曾麟粦<sup>1,2</sup>, 杨敏<sup>1,2</sup>, 杨兴鑫<sup>1,2#</sup> (1. 云南中医学院中药学院, 昆明 650500; 2. 昆明市代谢性疾病中医药防治重点实验室, 昆明 650500)

中图分类号 R285; Q28 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)20-2865-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.20.28

**摘要** 目的: 了解线粒体自噬机制、相关疾病及中药(包括活性部位/成分)对其调节作用的研究进展, 为促进中药药效物质挖掘、药理作用和机制研究以及创新中药研发等提供参考。方法: 以“线粒体自噬”“机制”“疾病”“中药”“部位”“成分”“Mitophagy”“Mechanism”“Diseases”“Traditional Chinese medicines”“Herbal medicines”“Site”“Component”等为关键词, 组合查询中国知网、万方、维普、PubMed、ScienceDirect、SpringerLink、Web of Science等数据库收录的相关文献, 检索时限均为各数据库建库起至2018年5月, 就线粒体自噬的分子机制、相关疾病及中药(包括活性部位/成分)对其调节作用的研究进展进行汇总与分析。结果与结论: 共检索到相关文献1 925篇, 其中有效文献54篇。线粒体自噬的调控主要由PTEN诱导激酶1(Pink1)/E3泛素连接酶Parkin、Nix/BNIP3、Mieap、FUN14结构域包含蛋白1(FUNDC1)、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、UNC-51样激酶1(ULK1)、高迁移率族蛋白B1(HMGB1)等蛋白介导, 其功能异常可能会导致神经退行性疾病(阿尔茨海默病、帕金森病、肌萎缩性侧索硬化等)、肿瘤、心脏疾病(心肌缺血、心肌梗死等)、肝脏疾病(非酒精性脂肪肝、酒精性脂肪肝、肝损伤等)、代谢性疾病(胰岛素抵抗、尼曼匹克氏病等)的发生。部分中药活性部位/成分(三七总皂苷、槲皮素、白藜芦醇、姜黄素、褐藻素等)可通过激活AMPK、抑制Pink1/Parkin途径、增强Beclin1的表达等方式来调节线粒体自噬。深入研究中药对线粒体自噬的调节作用, 有助于为揭示中药发挥药效作用的物质基础及本质、提高新药研发与临床治疗水平提供参考。

**关键词** 线粒体自噬; 自噬机制; 疾病; 中药; 活性部位; 活性成分; 调节作用

题, 特别是国家自然科学基金资助的高层次课题选择以Meta分析对既往研究进行回顾, 这对于后期研究的开展具有重要意义。针对疗效开展基础研究和验证性研究是当前中医药课题研究的重要内容, 这与循证医学为医疗决策提供证据的思路相一致。

从研究内容上看, 应用研究占了绝大多数, 选取了大量的干预措施和病种进行研究, 除了常规治疗外, 针对“太极拳”“气功”“情志干预”“体质辨识”等干预措施的研究进一步扩大了传统中医药循证研究的外延; 而在病种上, 除了循环系统疾病等中医药传统优势病种外, “症状、体征和异常的临床和化验结果 NEC”“血液和造血器官疾病以及某些涉及免疫机能的异常”等类型的疾病也都有涉及。但是, 统计中也发现, 针对中医药Meta分析的理论研究相对偏少, 特别是方法学研究更少。中医药学具有相对独立的研究体系, 临床异质性远远超过现代医学, 例如, 针对“不同产地的中药材”“不同组方的中药复方”“不同穴位的针灸治疗”“不同介质的刮痧用具”等如何进行统计合并, 相关方法学研究还应该进

一步加强。

## 4 结语

综上所述, Meta分析在我国中医药科研中的应用发展迅速, 论文数量近年显著增加, 来源期刊较为广泛, 研究内容覆盖全面, 论文质量整体较高, 但不可忽视研究机构分布不均、理论研究较为欠缺等不足。后期尤其应该重视Meta分析相关方法学的研究, 以进一步推进中医药循证研究的发展。

## 参考文献

- [1] 徐蕴, 魏琦, 王会梅, 等. 《中国针灸》发表Meta分析的质量评价[J]. 中国循证医学杂志, 2017, 17(6): 719-725.
- [2] 徐蕴, 魏琦, 汤大朋, 等. 2006—2015年中国期刊全文数据库中医基础理论文献计量分析[J]. 中医杂志, 2017, 58(5): 418-422.
- [3] 徐蕴. 基于中国科学引文数据库的中医学术论文计量分析[J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(5): 95-98.
- [4] 罗式胜. 文献计量学概论[M]. 广州: 中山大学出版社, 1994: 309-310.
- [5] 魏琦, 徐蕴. 基于中国科学引文数据库的中医护理学文献计量分析[J]. 解放军护理杂志, 2016, 33(21): 6-10.
- [6] 周永莲, 陈伟, 沈绍武. 基于CNKI的中医养生保健文献计量学分析[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(10): 38-41.
- [7] 徐蕴, 魏琦, 汤大朋. 基于CNKI文献统计的高等中医药院校研究生教育研究述评[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(3): 723-725.

(收稿日期: 2017-11-17 修回日期: 2018-09-12)

(编辑: 孙冰)

<sup>△</sup> 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81660596、81760733); 云南省科学技术厅科技计划项目[No.2016FD050、2017FF117-(013)]; 云南省刘昌孝院士工作站名单(No.云科外发[2017]3号); 云南省科学技术厅中青年学术技术带头人后备人才培养任务(No.2015HB053)

\* 硕士研究生。研究方向: 中药药效物质基础。E-mail: a349231148@qq.com

# 通信作者: 讲师, 博士。研究方向: 中药药效物质基础。E-mail: yxx78945@163.com

线粒体自噬(Mitophagy)是指细胞通过自噬的机制选择性地清除受损或功能不完整的线粒体的过程。机体可通过线粒体自噬来维持线粒体功能的完整性,从而达到延缓衰老、治疗疾病的目的<sup>[1]</sup>。相关研究表明,哺乳动物体内线粒体自噬的调控主要由PTEN诱导激酶1(Pink1)/E3泛素连接酶Parkin、Nix/BNIP3、Mieap、FUN14结构域包含蛋白1(FUNDC1)、腺苷活化蛋白激酶(AMPK)、UNC-51样激酶1(ULK1)、高迁移率族蛋白B1(HMGB1)等蛋白介导,其自噬功能异常与神经退行性病变、肿瘤、心血管疾病、肝脏疾病及胰岛素抵抗等的发生密切相关;同时该研究还指出,一些中药及其活性部位/成分可通过调节线粒体自噬过程中关键蛋白的活性来增强或者抑制线粒体自噬,最终发挥对相关疾病的防治作用<sup>[2]</sup>。为此,笔者以“线粒体自噬”“机制”“疾病”“中药”“部位”“成分”“Mitophagy”“Mechanism”“Diseases”“Traditional Chinese medicines”“Herbal medicines”“Site”“Component”等为关键词,组合查询中国知网、万方、维普、PubMed、ScienceDirect、SpringerLink、Web of Science等数据库收录的相关文献,检索时限均为各数据库建库起至2018年5月。结果,共检索到相关文章1 925篇,其中有效文献54篇。现就线粒体自噬的分子机制、相关疾病及中药(包括活性部位/成分)对其调节作用的研究进展进行汇总与分析,以期为促进中药药效物质挖掘、药理作用和机制研究以及创新中药研发等提供参考。

## 1 线粒体自噬分子机制

### 1.1 Pink1/Parkin介导的线粒体自噬

蛋白激酶Pink1在胞质内合成后,通过线粒体膜分子通道进入线粒体内部,最终被线粒体内蛋白水解酶降解<sup>[3]</sup>。线粒体受损会导致内膜电位消散,使Pink1由外向内的转移过程受到阻滞;同时,由于Pink1未被蛋白水解酶降解,使得其可在线粒体外膜上不断聚集和累积。Parkin是一种E3泛素连接酶,被Pink1从胞质中募集至线粒体外膜并发生磷酸化,活化后的Parkin可催化线粒体蛋白发生泛素化,使之能被接头蛋白(或选择性自噬受体)识别;该自噬体再与吞噬膜上酵母自噬蛋白8家族同源蛋白[如微管相关蛋白轻链3(LC3)、高尔基体相关腺苷三磷酸酶增强子(16 kDa)(GATE-16)等]连接,形成线粒体自噬体;该自噬体与溶酶体融合形成成熟的线粒体自噬溶酶体,启动线粒体降解程序<sup>[4]</sup>。另外,Smad泛素化调节因子1(Smurfl)是HECT类E3泛素连接酶结构域的典型代表<sup>[5]</sup>。有研究证明,Smurfl可与接头蛋白重组人肿瘤坏死因子受体相关因子1(TRAF1)相互作用,并介导其泛素化降解<sup>[6]</sup>;也有研究发现,Smurfl可介导羰基氰化物间氯苯胺(CCCP)诱导的线粒体自噬<sup>[7]</sup>。

### 1.2 Nix/BNIP3介导的线粒体自噬

Nix位于线粒体外膜,敲除其编码基因Nix后可显著降低机体清除受损线粒体的能力<sup>[8]</sup>。相关研究显示,Nix基因敲除小鼠体内成熟红细胞减少,幼稚粒细胞增加,

且成熟红细胞中的线粒体仍然存在。这提示在Nix基因缺失的情况下,小鼠红细胞成熟过程中的线粒体自噬发生障碍<sup>[9]</sup>。进一步研究表明,Nix蛋白可能是线粒体自噬的受体之一,其能够与LC3蛋白直接结合,并将后者募集至受损的线粒体上,诱导线粒体自噬的发生<sup>[9]</sup>。BNIP3是Nix的同源体,在线粒体和内质网中均有表达,低氧条件下可通过其LIR结构域与LC3蛋白发生相互作用,从而诱导线粒体自噬;同时,BNIP3磷酸化可增强其与LC3蛋白的相互作用,促进线粒体自噬<sup>[10]</sup>。然而,诱导BNIP3磷酸化的相关激酶及具体机制尚不清楚。

### 1.3 Mieap介导的线粒体自噬

Mieap可诱使溶酶体在线粒体内积累,并通过线粒体自噬来消除衰老的线粒体和修复受损的线粒体;此外,Mieap也可诱导液泡样结构吞噬受损线粒体<sup>[11]</sup>,可见其可通过修复或诱导线粒体自噬来调控线粒体的功能。基础研究显示,Mieap基因缺陷ApcMin小鼠可发生高分化率的肠肿瘤,受损的线粒体在肿瘤细胞中大量累积,使得肿瘤细胞的增殖和侵袭能力增强;同时,Mieap基因缺陷小鼠不能进行正常的线粒体自噬,提示Mieap介导的线粒体自噬可能与肿瘤发生有关<sup>[12]</sup>。

### 1.4 FUNDC1介导的线粒体自噬

FUNDC1定位于线粒体外膜,高表达的FUNDC1可激活线粒体自噬<sup>[13]</sup>。LC3是自噬发生的关键蛋白,而FUNDC1的氮末端有与LC3蛋白直接结合的作用域(即LIR结构域),LIR结构域的缺失或结构变化均能抑制FUNDC1与LC3蛋白的相互作用,进而下调线粒体的自噬活性<sup>[13]</sup>。有研究指出,在正常生理状态下,蛋白激酶Src通过磷酸化LIR结构域的Thy18位点来抑制FUNDC1与LC3蛋白的相互作用,下调线粒体的自噬活性;而在低氧环境下,蛋白激酶Src活性被抑制,其磷酸化FUNDC1的能力亦随之减弱,去磷酸化的FUNDC1与LC3蛋白结合增强,下游线粒体自噬得以激活<sup>[14]</sup>。此外该研究还发现,低氧条件有助于将ULK1募集至受损线粒体上,后者通过磷酸化FUNDC1的Ser17位点来促进线粒体的自噬<sup>[14]</sup>。

### 1.5 AMPK介导的线粒体自噬

AMPK激活剂二甲双胍可通过激活AMPK来诱发线粒体自噬<sup>[15]</sup>。Pauly M等<sup>[16]</sup>研究发现,AMPK的另一激活剂5-氨基咪唑-4-甲酰胺-1-β-D-咪唑核糖苷(AICAR)可有效激活线粒体自噬,并清除受损线粒体,改善实验动物进行性肌营养不良症状,提高肌肉收缩力。由此可见,AMPK可促进线粒体自噬,并有助于及时清除受损线粒体、维持机体代谢平衡。现有研究表明,AMPK主要通过自噬相关蛋白Atg1和ULK1来调节线粒体自噬<sup>[17]</sup>:①雷帕霉素受体复合物1(TORC1)可通过直接磷酸化Atg1以阻滞线粒体自噬;而AMPK被激活后,可抑制TORC1的活性,进而增强线粒体自噬。②AMPK也可直接磷酸化ULK1的Ser555、Thr574和Ser637等3个位点来引发线粒体自噬。

## 1.6 ULK1介导的线粒体自噬

有研究指出,自噬相关蛋白ULK1可调节线粒体自噬<sup>[18]</sup>。除与AMPK相互作用外,ULK1在细胞内还可与自噬相关蛋白Atg13、FIP200、Atg101紧密结合,形成ULK1复合体,活化后的ULK1复合体可通过磷酸化Beclin1来增强Ⅲ型磷脂酰肌醇激酶(PI3K-Ⅲ,又称VPS34)复合体的活性,从而调节线粒体自噬;此外,ULK1复合体还可磷酸化紫外线抵抗相关基因(UVRAG)编码产物结合的Beclin1来促进自噬体的成熟与运输<sup>[18]</sup>。

## 1.7 HMGB1介导的线粒体自噬

HMGB1在多种肿瘤细胞中呈高表达,是其发生自噬和凋亡的重要调节分子<sup>[19]</sup>。相关研究发现,线粒体自噬与肿瘤细胞的耐药性密切相关,细胞内外的HMGB1可通过促进细胞外调节蛋白激酶和c-氨基末端激酶的协同转录活性等途径来调节肿瘤细胞的线粒体自噬,因此下调HMGB1的表达可增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性<sup>[20]</sup>。

## 2 线粒体自噬异常相关疾病

线粒体通常以电子传递链的方式产生腺苷三磷酸(ATP),向机体提供所需的能量,但此过程通常也伴随活性氧簇(ROS)等副产物的产生<sup>[21]</sup>。ROS等副产物会攻击蛋白质,引起过氧化连锁反应而损伤线粒体,最终影响机体的正常生理活动<sup>[22]</sup>。自噬选择性清除线粒体可调节线粒体数量和功能以适应细胞生存环境,从而维持人体健康,而自噬状态紊乱将导致疾病发生,包括神经退行性疾病、肿瘤、心脏疾病、肝脏疾病和代谢性疾病等,详见表1。

表1 线粒体自噬异常相关疾病

疾病	可能机制/位点
神经退行性疾病	
阿尔茨海默病(AD)	Pink1/Parkin <sup>[23]</sup>
帕金森病(PD)	Pink1、Parkin、 $\alpha$ -突触核蛋白(SNCA)、富亮氨酸重复序列激酶(LRRK2)等基因 <sup>[24]</sup>
肌萎缩性侧索硬化(ALS)	核因子E2相关因子(Nrf2)/抗氧化反应原件(ARE)信号通路 <sup>[25]</sup>
肿瘤	Nix、BNIP3 <sup>[26]</sup>
心脏疾病	BNIP3、Pink1/Parkin <sup>[27]</sup>
肝脏疾病	Pink1/Parkin <sup>[28]</sup>
代谢性疾病	
胰岛素抵抗(IR)	Pink1/Parkin <sup>[29]</sup>
尼曼匹克氏病(NPD)	未明确

### 2.1 线粒体自噬与神经退行性疾病

神经元细胞正常新陈代谢需要线粒体提供大量能量,线粒体功能障碍将会导致机体神经元病变。有研究发现,在多种神经退行性疾病中,线粒体自噬发生紊乱,且伴随线粒体功能障碍<sup>[30]</sup>。目前,线粒体自噬已成为神经退行性疾病(AD、PD、ALS等)发病及防治机制研究的重点。

2.1.1 AD AD是一种呈进行性发展的致死性神经退行性疾病,以记忆障碍、失语、失用、失认、视空间技能损害、执行功能障碍以及人格、行为改变等全面性痴呆表

现为其特征<sup>[31]</sup>。有研究发现在AD发病初期,机体线粒体功能紊乱,ROS的产生明显加速;同时,线粒体发生分裂或融合改变,其溶酶体功能有所减弱,使得其自噬水平降低<sup>[2]</sup>。然而,Moreira PI等<sup>[23]</sup>的研究却发现,AD模型细胞中线粒体自噬能力增强;赵雪莲等<sup>[32]</sup>的研究也发现,AD模型细胞中线粒体自噬明显增加,线粒体肿胀、嵴消失,且膜电位下降明显,其自噬相关蛋白Pink1/Parkin表达增加。由此可见,线粒体自噬可以通过清除受损的线粒体来发挥对AD的保护作用。

2.1.2 PD PD是最常见的运动失调性疾病。有研究表明,在散发性PD患者全身组织中均可见明显的线粒体功能障碍,且线粒体自噬紊乱与细胞死亡、神经元变性密切相关<sup>[33]</sup>。目前已知PD相关基因Pink1、Parkin、SNCA、LRRK2均参与了线粒体的自噬调节<sup>[24]</sup>。其中,Pink1基因编码产物参与线粒体动力、代谢和异常蛋白的降解过程,并参与募集Parkin等蛋白至受损线粒体表面触发线粒体自噬;Parkin基因编码产物参与泛素-蛋白酶降解途径,调节自噬小体吞噬、促进衰老线粒体降解;SNCA基因编码的SNCA蛋白可影响自噬小体形成,调节线粒体动力并维持线粒体钙平衡,进而调控线粒体自噬;LRRK2基因突变也可引发线粒体自噬<sup>[24]</sup>。由此可见,线粒体自噬与PD的发生发展密切相关。

2.1.3 ALS ALS是运动神经元疾病(MND)最常见的类型,通常由呼吸衰竭引起,并伴随上、下运动神经元渐进性变性,从而造成患者肌肉萎缩,最终导致其瘫痪或死亡。有研究发现,线粒体的聚集、结构改变、外观肿胀和空泡化是最早能在ALS患者运动神经元中观察到的现象,其机制可能与Nrf2/ARE信号通路受到抑制有关<sup>[25]</sup>;同时,线粒体功能障碍亦是ALS患者早期常见现象之一。由此可见,线粒体自噬功能受损和功能障碍是ALS的病因之一<sup>[34]</sup>。

### 2.2 线粒体自噬与肿瘤

线粒体自噬与肿瘤的发生发展有着密切关联,在肿瘤的不同发展阶段,线粒体自噬具有不同作用:在肿瘤发生早期,线粒体自噬可维持细胞正常代谢,防止细胞应激反应和基因组损伤,抑制肿瘤发展;在肿瘤发生中后期,肿瘤细胞依靠增强线粒体自噬来提高自身耐受低营养、低氧状态的能力,从而促进肿瘤细胞的生长<sup>[35]</sup>。但也有研究发现在低氧条件下,线粒体中Nix和BNIP3蛋白的表达增加,线粒体自噬能力增强,而肿瘤细胞的增殖减弱,表明线粒体自噬可能抑制了肿瘤的发展<sup>[26]</sup>。Mathew R等<sup>[36]</sup>研究发现,线粒体自噬活动受到肿瘤细胞的限制,处于较低水平;而肿瘤细胞的增殖则随着线粒体自噬水平升高而减弱。

### 2.3 线粒体自噬与心脏疾病

线粒体自噬参与了许多心脏疾病的发生发展,包括心肌缺血和心肌梗死等<sup>[2]</sup>。心肌细胞中含有大量的线粒体,因此及时清除受损线粒体对维持心脏正常功能非常

重要。

心肌缺血引起的线粒体功能障碍是导致心肌细胞死亡的主要原因,通过线粒体自噬可选择性地清除受损线粒体,最终实现对缺血心肌的保护作用。Duan HY等<sup>[27]</sup>研究发现,心肌细胞转染钙调磷酸酶调节蛋白1-1L(Rcan1-1L)后可减轻血管紧张素Ⅱ诱导的心肌细胞凋亡,同时可增加自噬相关蛋白Atg5和LC3的表达,且Rcan1-1L的心肌细胞保护作用机制可能与其诱导线粒体自噬有关。

研究显示,提高线粒体自噬可减小实验动物急性心肌梗死面积,提高心肌ATP含量<sup>[37]</sup>。班努·库肯等<sup>[38]</sup>研究发现,心肌梗死模型大鼠心肌细胞中线粒体及自噬小体的数量显著增多,线粒体结构被破坏,且Parkin蛋白及其编码基因在心肌细胞线粒体自噬的过程中至关重要。以Parkin基因敲除小鼠为对象进行研究发现,该基因缺失小鼠心肌细胞中线粒体自噬明显减少,且梗死后出现线粒体功能障碍;而正常小鼠发生心肌梗死后,其梗死区域内Parkin蛋白表达水平和线粒体自噬水平均迅速增加,表明心肌梗死后上调Parkin蛋白是有益的,机体能够通过增强线粒体自噬来抵抗心肌细胞的大量损伤<sup>[39]</sup>。

## 2.4 线粒体自噬与肝脏疾病

线粒体是肝细胞内较为敏感的细胞器之一,多种急、慢性肝病均存在线粒体结构和功能的异常<sup>[35]</sup>。有研究发现,线粒体自噬参与了非酒精性脂肪肝(NAFLD)、酒精性脂肪肝(AFLD)、肝损伤及肝缺血再灌注损伤等肝脏疾病的发生发展<sup>[35]</sup>。

李相迁<sup>[28]</sup>研究发现,随着病情的进展,非酒精性脂肪性肝炎(NASH)模型小鼠体内线粒体损伤加重,Pink1/Parkin介导的线粒体自噬水平降低,ROS释放增加,炎症反应加重。因此,笔者推测Pink1/Parkin介导的线粒体自噬途径参与了NAFLD的病理过程,自噬蛋白通过吞噬受损线粒体、减少ROS释放、抑制NLRP3炎症小体激活来发挥肝保护作用。

AFLD的特征包括脂肪泡大量积聚、脂质平衡破坏、线粒体损伤、肝细胞氧化应激以及细胞死亡等。研究表明,白藜芦醇可通过增加LC3、Pink1和Parkin蛋白的表达来增强线粒体自噬,改善AFLD的肝脏脂肪沉积和线粒体损伤<sup>[40]</sup>。由此可见,LC3、Pink1和Parkin可能与AFLD的发展有关。

Williams JA等<sup>[41]</sup>研究发现,正常小鼠给予对乙酰氨基酚后可出现肝损伤,而通过诱导Parkin转移至线粒体内,增加小鼠肝脏中线粒体蛋白泛素化水平可诱导线粒体自噬,对肝损伤起到一定的保护作用。这表明Parkin蛋白可能参与了肝损伤过程。

## 2.5 线粒体自噬与代谢性疾病

代谢性疾病是由于摄入营养水平改变,能量存储、释放或消耗异常,细胞信号转导功能障碍,激素水平紊

乱导致代谢失调而引发的疾病<sup>[42]</sup>。随着人们生活节奏的加快以及饮食规律的变化,糖尿病、IR、NPD等代谢性疾病的发病率日趋升高,严重地危害了人类健康。近年来研究显示,线粒体自噬异常与IR、NPD等多种代谢性疾病相关<sup>[42]</sup>。

2.5.1 IR IR是指正常剂量的胰岛素产生低于其正常生物学效应的一种状态,其实质为胰岛素介导的糖代谢能力下降,主要表现为胰岛素作用的靶组织和靶器官对其敏感性及反应性降低<sup>[43]</sup>。研究表明,氧化损伤导致的线粒体功能紊乱是IR发生的重要原因之一,在以IR为主要病理特征的代谢性疾病(如肥胖和糖尿病)研究均观察到线粒体体积减小、数目减少及ATP生成减少等现象,提示IR状态下可能存在线粒体失衡<sup>[44]</sup>。已有研究证实,ROS诱导的线粒体去极化损伤可激活线粒体自噬通路Pink1/Parkin,推测当线粒体功能失调时,线粒体自噬活性上调,使得受损线粒体清除增加,线粒体功能增强,最终调节下游的胰岛素通路并改善IR症状;相反,当线粒体自噬异常时,细胞清除受损线粒体的能力降低,受损线粒体累积,线粒体更新障碍,使得ROS等代谢产物大量堆积,从而阻滞了细胞内胰岛素信号通路,最终诱发IR<sup>[29]</sup>。

2.5.2 NPD NPD是由于神经鞘磷脂酶缺乏引起神经鞘磷脂代谢障碍所间接导致的一种中枢神经系统退行性疾病<sup>[45]</sup>。有学者采用人胚胎干细胞衍生的神经元模拟C1型尼曼匹克氏病(NPC1)细胞模型进行研究发现,NPC1神经元的过度活化和损伤均可引起机体内线粒体清除异常,线粒体自噬出现严重障碍,故推测线粒体自噬可能与该病的发生密切相关,但其具体机制尚有待深入研究<sup>[46]</sup>。

## 3 中药对线粒体自噬的调节作用

中药富含众多活性成分,可从多环节、多靶点调节机体功能,从而达到综合治疗的目的。开展中药对线粒体自噬的调节作用及相关机制研究,对于揭示中药的作用本质(药效物质基础及其机制)、实现中药现代化以及防治相关疾病具有重要意义。研究表明,一些中药(包括单味药材、活性部位/成分)可通过调节线粒体自噬而缓解相关病症,其具体途径主要包括以下几个方面:(1)调节BNIP3<sup>[47]</sup>和B细胞淋巴瘤/白血病2(Bcl-2)<sup>[48]</sup>基因;(2)激活AMPK<sup>[49]</sup>;(3)调节Pink1、Parkin和LC3蛋白表达<sup>[40]</sup>;(4)增强Beclin1表达,促进LC3-I转化为LC3-II<sup>[50]</sup>以及自噬溶酶体形成。如周金玲等<sup>[47]</sup>研究发现,三七皂苷(SPN)可能通过BNIP3途径来增强肾组织中线粒体的自噬水平,以缓解顺铂引发的肾损伤;且随着干预时间的延长,SPN对大鼠受损肾组织的保护作用亦逐渐增强。张怀念等<sup>[48]</sup>研究发现,木犀草素可通过上调人肝癌HepG2细胞内ROS浓度,下调细胞内Bcl-2基因表达,进而引起线粒体膜电位下降和线粒体损伤,诱导线粒体自噬发生,从而发挥抗肿瘤活性。其他可调节线粒体自噬

的中药活性部位/成分见表2。

表2 中药活性部位/成分对线粒体自噬的调节作用

部位/成分	对线粒体自噬的调节机制	药理作用
槲皮素 <sup>[9]</sup>	激活 AMPK	抑制肺癌 A549 细胞、人乳腺 MCF-7 细胞增殖
白藜芦醇 <sup>[4]</sup>	增加 Pink1、Parkin 和 LC3 蛋白的表达	改善 AFLD 的肝脏脂肪沉积和线粒体损伤
褐藻素 <sup>[9]</sup>	诱导 Beclin1 表达增强, 促进 LC3-I 转化为 LC3-II, 促进自噬溶酶体形成和线粒体自噬	抑制肝癌 HepG2 细胞增殖
姜黄素 <sup>[5]</sup>	损伤线粒体并诱发线粒体自噬	促进鼻咽癌 CNE2 细胞死亡
大黄素乙酰化物 <sup>[2]</sup>	作用于鼻咽癌 CNE1 细胞受损线粒体, 诱发线粒体自噬	促进鼻咽癌 CNE1 细胞自噬性死亡
远志皂苷 <sup>[5]</sup>	抑制 Pink1/Parkin 途径, 降低线粒体 LC3 蛋白的表达, 从而减弱线粒体自噬	保护神经细胞
阿魏酸 <sup>[4]</sup>	增加 LC3-II 蛋白的表达	保护糖氧剥夺引起的脑微血管内皮细胞损伤

#### 4 结语

综上,线粒体自噬的调控主要由 Pink1/Parkin、Nix/BNIP3、Mieap、FUNDC1、AMPK、ULK1、HMGB1 等蛋白介导,其功能异常可能会导致神经退行性疾病(AD、PD、ALS 等)、肿瘤、心脏疾病(心肌缺血、心肌梗死等)、肝脏疾病(NAFLD、AFLD、肝损伤等)、代谢性疾病(IR、NPD 等)的发生。部分中药活性部位/成分(如三七总皂苷、槲皮素、白藜芦醇、姜黄素、褐藻素等)可通过激活 AMPK、抑制 Pink1/Parkin 途径、增强 Beclin1 的表达等方式来调节线粒体自噬。

线粒体自噬是一个特异性的选择过程,受到各种因子的影响,是细胞清除体内受损线粒体和维持自身稳定的一种重要调节机制。利用线粒体自噬可以维持细胞内线粒体的健康运转以及细胞的稳定增殖。尽管当前已发现可介导线粒体自噬的多条途径及其与人类疾病的关联,但各介导途径间的相关性以及线粒体自噬所致疾病的确切机制尚未阐明,仍需开展深入研究。

中药可调节线粒体自噬而缓解相关疾病。然而,当前研究仅探讨了中药及其活性部位/成分能否调节线粒体自噬而缓解疾病,对其具体药效物质基础及作用机制仍有待深入研究。另外值得一提的是,尽管有研究发现中药及其活性部位/成分能通过调节线粒体自噬而缓解疾病,但现有品种较少且未见中药复方对线粒体自噬调节作用的相关报道,药材和化合物群的相关研究亦较少。因此,应广泛开展中药(包括复方、单味药、有效部位及单体化合物)对线粒体自噬调节作用的相关研究,以揭示中药药效作用及其本质。可以预见,随着线粒体自噬与人类疾病相关性以及中药对线粒体自噬调节作用研究的不断深入,将会发现更多可通过调节线粒体自噬而缓解疾病的中药及其活性部位/成分,并将明确其药效物质基础及作用机制,从而进一步为阐明中医药复杂的抗病机制,完善中医学理论,提高新药研发与临床治疗水平提供参考。

#### 参考文献

[1] GATICA D, LAHIRI V, KLIONSKY DJ. Cargo recogni-

tion and degradation by selective autophagy[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3):233-242.

[2] 刘涓涓,王志舒,谭晓荣. 线粒体自噬与人类疾病[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, 31(5):466-472.

[3] HARPER JW, ORDUREAU A, HEO JM. Building and decoding ubiquitin chains for mitophagy[J]. *Cell Biol*, 2018, 19(2):93-108.

[4] 汤友静,牛玉娜,王辉. Pink1/Parkin 介导的线粒体自噬分子机制[J]. *中国细胞生物学学报*, 2017, 39(7):939-946.

[5] 张盼. PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬在溃疡性结肠炎发病中的作用[D]. 石家庄:河北医科大学, 2016.

[6] 奚慎立,卢克峰,张令强,等. 泛素连接酶 Smurf1 与接头蛋白 TRAF1 相互作用并介导其泛素化降解[J]. *军事医学科学院院刊*, 2010, 34(6):501-504.

[7] ORVEDAHL A, SUMPTER R JR, XIAO G, et al. Image-based genome-wide siRNA screen identifies selective autophagy factors[J]. *Nature*, 2011, 480(7375):113-117.

[8] NOVAK I, KIRKIN V, MCEWAN DG, et al. Nix is a selective autophagy receptor for mitochondrial clearance[J]. *EMBO Rep*, 2010, 11(1):45-51.

[9] SANDOVAL H, THIAGARAJAN P, DASGUPTA SK, et al. Essential role for Nix in autophagic maturation of erythroid cells[J]. *Nature*, 2008, 454(7201):232-235.

[10] ZHU Y, MASSEN S, TERENCE M, et al. Modulation of serines 17 and 24 in the LC3-interacting region of BNIP3 determines pro-survival mitophagy versus apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(2):1099-1113.

[11] KITAMURA N, NAKAMURA Y, MIYAMOTO Y, et al. Mieap: a p53-inducible protein, controls mitochondrial quality by repairing or eliminating unhealthy mitochondria [J]. *PLoS One*, 2011, 6(1):e16060.

[12] 王建东,张红,刘湧. 线粒体自噬分子机制的研究进展[J]. *实用医学杂志*, 2011, 27(17):3243-3245.

[13] 史霄雨,于亮,王祯. FUNDC1 与运动诱导线粒体自噬[J]. *生理科学进展*, 2017, 48(5):388-392.

[14] WU W, TIAN W, HU Z, et al. ULK1 translocates to mitochondria and phosphorylates FUNDC1 to regulate mitophagy[J]. *EMBO Rep*, 2014, 15(5):566-575.

[15] EGAN DF, SHACKELFORD DB, MIHAYLOVA MM, et al. Phosphorylation of ULK1 (HATG1) by AMP activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy [J]. *Science*, 2011, 331(6016):456-461.

[16] PAULY M, DAUSSIN F, BURELLE Y, et al. AMPK activation stimulates autophagy and ameliorates muscular dystrophy in the mdx mouse diaphragm[J]. *Am J Pathol*, 2012, 181(2):583-592.

[17] BEHRENDTS C, SOWA ME, GYGI SP, et al. Network organization of the human autophagy system[J]. *Nature*, 2010, 466(7302):68-76.

[18] RUSSELL RC, TIAN Y, YUAN H, et al. ULK1 induces

- autophagy by phosphorylating Beclin-1 and activating VPS34 lipid kinase[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(7): 741-750.
- [19] 刘心怡, 吴佳捷. 高迁移率族蛋白B1基因沉默抑制子宫内膜癌侵袭与转移的机制[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2016, 41(3): 251-257.
- [20] HUANG J, NI J, LIU K, et al. HMGB1 promotes drug resistance in osteosarcoma[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(1): 230-238.
- [21] 马文科, 戴舒惠, 罗鹏, 等. 线粒体自噬的研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(6): 1176-1179.
- [22] LEMASTERS JJ. Selective mitochondrial autophagy, or mitophagy, as a targeted defense against oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging[J]. *Rejuvenation Res*, 2005, 8(1): 3-5.
- [23] MOREIRA PI, SIEDLAK SL, WANG XL, et al. Increased autophagic degradation of mitochondria in Alzheimer disease[J]. *Autophagy*, 2017, 3(6): 614-615.
- [24] 王英, 张强, 乐卫东. 线粒体自噬参与帕金森病发病机制的研究进展[J]. *中华临床医师杂志*, 2015, 9(21): 3962-3968.
- [25] SMITH EF, SHAW PJ, DE VOS KJ. The role of mitochondria in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Neurosci Lett*, 2017. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.06.052.
- [26] MAZURE NM, BRAHIMI-HORN MC, POUYSSÉGUR J. Hypoxic mitochondria: accomplices in resistance[J]. *Bull Cancer*, 2011, 98(5): 40-46.
- [27] DUAN HY, LI YQ, YAN LJ, et al. Rcan1-1L overexpression induces mitochondrial autophagy and improves cell survival in angiotensin II -exposed cardiomyocytes[J]. *Exp Cell Res*, 2015, 335(1): 99-106.
- [28] 李相迁. PINK1介导的线粒体自噬障碍在NASH发病机制中的作用[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2017.
- [29] WEI X, QI Y, ZHANG X, et al. Cadmium induces mitophagy through ROS-mediated PINK1/Parkin pathway[J]. *Toxicol Mech Methods*, 2014, 24(7): 504-511.
- [30] KEANE PC, KURZAWA M, BLAIN PG, et al. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease[J]. *Parkinsons Dis*, 2011. DOI: 10.4061/2011/716871.
- [31] 赵鹏, 孙亚平, 陈红, 等. 阿尔茨海默病发病机制探究[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2016, 33(1): 86-89.
- [32] 赵雪莲, 于君, 谢兆宏, 等. 线粒体自噬在阿尔茨海默病细胞模型中的作用机制[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2015, 53(10): 1-5.
- [33] MOON HE, PAEK SH. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease[J]. *Exp Neurobiol*, 2015. DOI: 10.5607/en.2015.24.2.103.
- [34] ROGERS RS, TUNGTUR S, TANAKA T, et al. Impaired mitophagy plays a role in denervation of neuromuscular junctions in ALS mice[J]. *Front Neurosci*, 2017. DOI: 10.3389/fnins.2017.00473.
- [35] DING WX. Role of autophagy in liver physiology and pathophysiology[J]. *World J Biol Chem*, 2010, 1(1): 3-12.
- [36] MATHEW R, KARANTZA-WADSWORTH V, WHITE E. Role of autophagy in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(12): 961-967.
- [37] KANAMORI H, TAKEMURA G, GOTO K, et al. Autophagy limits acute myocardial infarction induced by permanent coronary artery occlusion[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 300(6): 2261-2271.
- [38] 班努·库肯, 钟小兰, 严金龙. 大鼠心肌梗死后心脏线粒体及自噬小体的变化与Parkin蛋白活性的相关性[J]. *临床心血管病杂志*, 2016, 32(6): 598-602.
- [39] KUBLI DA, ZHANG X, LEE Y, et al. Parkin protein deficiency exacerbates cardiac injury and reduces survival following myocardial infarction[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(2): 915-926.
- [40] 杨风丽. 基于Pink1/Parkin信号通路研究白藜芦醇在酒精性脂肪肝中的线粒体自噬作用[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2017.
- [41] WILLIAMS JA, NI HM, HAYNES A, et al. Chronic deletion and acute knockdown of Parkin have differential responses to acetaminophen-induced mitophagy and liver injury in mice[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(17): 10934-10946.
- [42] DUGAIL I, KALOPISSIS A, MIQUEL M, et al. Lipids in metabolic diseases[J]. *Biochimie*, 2014. DOI: 10.1016/j.biochi.2013.11.009.
- [43] 时丽丽, 张莉, 谭初兵, 等. 线粒体功能损伤与胰岛素抵抗[J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(11): 1481-1486.
- [44] BONNARD C, DURAND A, PEYROL S, et al. Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(2): 789-800.
- [45] 刘丹慧, 吕建新. 线粒体自噬的研究进展[J]. *细胞生物学杂志*, 2008, 30(4): 467-471.
- [46] ORDONEZ MP. Defective mitophagy in human Niemann-Pick Type C1 neurons is due to abnormal autophagy activation[J]. *Autophagy*, 2012, 8(7): 1157-1158.
- [47] 周金玲, 杨玉芳, 黄振光, 等. 三七总皂苷通过HIF-1 $\alpha$ /BNIP3途径增强线粒体自噬保护大鼠顺铂肾损伤[J]. *中国药理学杂志*, 2017, 52(3): 196-200.
- [48] 张怀念, 曹治家, 陈红梅, 等. 木犀草素对肝癌HepG2细胞线粒体自噬及Bcl-2表达的影响[J]. *广东医学*, 2015, 36(23): 3386-3390.
- [49] GIBELLINI L, BIANCHINI E, DE BIASI S, et al. Natural compounds modulating mitochondrial functions[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015. DOI: 10.1155/2015/527209.
- [50] 廖政邦, 李明, 谢松强. 褐藻素诱导肝癌HepG2细胞凋亡和自噬的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(15): 181-184.
- [51] WANG X, LEUNG AW, LUO J, et al. TEM observation of ultrasound induced mitophagy in nasopharyngeal carcinoma cells in the presence of curcumin[J]. *Exp Ther Med*,

# 显齿蛇葡萄中黄酮类化合物的研究进展<sup>△</sup>

冯淳\*, 焦思棋, 余正文<sup>△</sup>(贵州师范大学生命科学学院, 贵阳 550025)

中图分类号 R282;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)20-2871-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.20.29

**摘要** 目的:为葡萄科蛇葡萄属植物显齿蛇葡萄中黄酮类化合物的研究、开发与应用提供参考。方法:以“显齿蛇葡萄”“黄酮类化合物”“提取”“分离”“纯化”“药理活性”等的中英文为关键词,组合查询在PubMed、中国知网、万方、维普等数据库中收录的于1979年1月—2017年12月发表的相关文献,归纳、总结显齿蛇葡萄中黄酮类化合物的提取、分离纯化与药理活性方面的研究进展。结果与结论:共检索获得577篇文献,其中有效文献53篇。显齿蛇葡萄中黄酮类化合物主要分为黄酮类、黄酮醇类、异黄酮类、黄烷酮类、查耳酮类以及花色素类等,主要代表化合物为二氢杨梅素;其主要通过乙醇/水提取法、超声提取法、微波辅助提取法、闪式提取法和酶法等提取,多采用大孔树脂进行分离纯化。显齿蛇葡萄中黄酮类化合物的药理活性多样,主要包括消炎、抗菌、降血糖、降血脂、降血压、抗氧化、抗动脉粥样硬化、保肝护肝以及抗肿瘤等。结论:显齿蛇葡萄中黄酮类化合物具有很高的药用开发前景,但在植物体内的代谢积累机制尚不明确,相关的高效提取分离技术仍需进一步研究优化,其药理活性的具体作用机制还不十分清楚,尚需进一步深入研究。

**关键词** 显齿蛇葡萄;黄酮类化合物;提取;分离纯化;药理活性

显齿蛇葡萄(*Ampelopsis grossedentata*)是葡萄科蛇葡萄属植物,俗称藤茶,其作为保健茶和中草药已有数百年的应用历史<sup>[1]</sup>。该植物主要分布在福建、云南、广东、广西、贵州和湖南等长江以南的地区,是一种药食同源的植物<sup>[2]</sup>。显齿蛇葡萄的主要有效成分是以二氢杨梅素(DMY)为主的黄酮类化合物,其提取物中总黄酮化合物含量约为86%<sup>[3]</sup>。显齿蛇葡萄味甘,性凉,具有多种药用功效,如清热解毒、强筋骨、消炎镇痛、抗动脉粥样硬化<sup>[4]</sup>、抗氧化<sup>[5]</sup>、抑菌、抗高血压、降血糖、消脂<sup>[6]</sup>、保肝<sup>[7]</sup>、解酒<sup>[8]</sup>和抗肿瘤<sup>[9]</sup>等。笔者以“显齿蛇葡萄”“黄酮类化合物”“提取”“分离”“纯化”“药理活性”等的中英文为关键词,组合查询收录在PubMed、中国知网、万方、维普等数据库中于1979年1月—2017年12月发表的相关文献。结果,共检索获得577篇文献,其中有效文献53篇。本文就显齿蛇葡萄中黄酮类化合物的提取、分离纯化和药理活性的研究进展进行归纳、总结,为该植物的进一步研究和开发应用提供理论基础。

## 1 显齿蛇葡萄黄酮类化合物的类型

显齿蛇葡萄中的黄酮类化合物主要分为黄酮类(Flavone)、黄酮醇类(Flavonol)、异黄酮类(Isoflavone)、黄烷酮类(Flavanones)、查耳酮类(Chalcone)以及花色

素类(Anthocyanidin)等<sup>[10]</sup>。这6类化合物的基本骨架结构见图1。

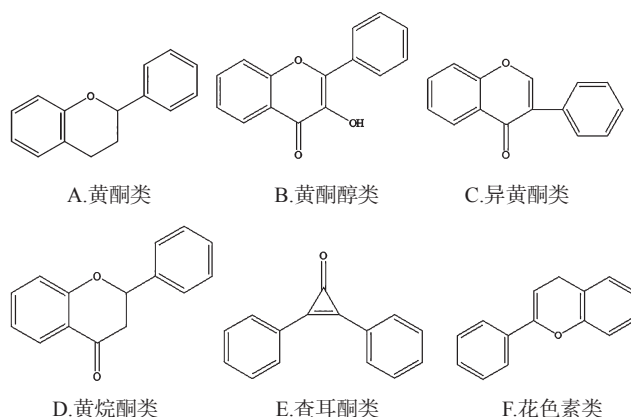


图1 黄酮类化合物的基本骨架结构

## 2 显齿蛇葡萄黄酮类化合物的提取与分离纯化

### 2.1 黄酮类化合物的提取

显齿蛇葡萄中黄酮类化合物的提取方法主要有乙醇/水提取法、超声提取法和微波辅助提取法,近年来还有闪式提取工艺和酶法提取的报道,提取溶剂主要为乙醇和水。陈玉琼等<sup>[11]</sup>研究发现,乙醇提取显齿蛇葡萄中黄酮类化合物的最佳条件为:以67%~85%乙醇为

2012,3(1):146-148.

[52] 莫媛媛,侯华新,黎丹戎,等. 大黄素乙酰化物致鼻咽癌

△基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.31460068);贵州省普通高等学校工程研究中心建设任务(No.黔教合KY字[2015]335)

\*硕士研究生。研究方向:药用植物代谢组学。E-mail:310491767@qq.com

#通信作者:教授,硕士生导师,博士。研究方向:植物源功能性研究。E-mail:yuzhengwen2001@126.com

CNE-1细胞线粒体自噬活性的研究[J]. 中国癌症防治杂志,2014,6(1):1-6.

[53] 尤付玲. 远志皂苷调节线粒体自噬在抗A $\beta$ 诱导细胞损伤中的作用及机制[D]. 广州:广东药科大学,2017.

[54] 陈俊莉. 阿魏酸通过诱导线粒体自噬保护糖氧剥夺引起的内皮细胞损伤[D]. 广州:广州中医药大学,2016.

(收稿日期:2018-01-24 修回日期:2018-08-12)

(编辑:张元媛)