

## · 综述 ·

## 心磷脂参与线粒体稳态维持和功能调节的研究进展

舒惺贻 路明 章卫平 魏纯纯

海军军医大学病理生理学教研室, 上海 200433

通信作者: 魏纯纯, Email: weichunchun@smmu.edu.cn

**【摘要】** 心磷脂是主要存在于线粒体内膜的一种结构独特的磷脂, 在线粒体稳态和功能调节中发挥重要作用。线粒体稳态方面, 心磷脂参与线粒体分裂、融合和自噬, 调节线粒体的含量与结构; 线粒体功能方面, 心磷脂在线粒体介导的氧化磷酸化、代谢物转运和细胞凋亡等过程中发挥了独特的作用。心磷脂稳态的失衡, 具体表现为含量的改变、酰基链的重塑和过氧化, 可导致线粒体功能障碍并参与多种与线粒体功能障碍相关疾病的病理生理过程。本文综述了心磷脂参与线粒体稳态维持和功能调节的研究进展, 并介绍了心磷脂在线粒体功能障碍相关内分泌疾病中的作用, 以期对心磷脂功能研究和相关疾病的治疗起到启发作用。

**【关键词】** 心磷脂; 线粒体稳态; 线粒体功能; 细胞凋亡; 内分泌疾病

**基金项目:** 上海市科技创新行动计划自然科学基金(21ZR1477900)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn121383-20230622-06041

**Update of the involvement of cardiolipin in mitochondrial homeostasis maintenance and functional regulation** Shu Xingyi, Lu Ming, Zhang Weiping, Wei Chunchun. Department of Pathophysiology, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: Wei Chunchun, Email: weichunchun@smmu.edu.cn

**【Abstract】** Cardiolipin is a kind of phospholipid with a unique structure on the inner membrane of mitochondria. Cardiolipin plays an important role in the regulation of mitochondrial homeostasis and function, which is attributed to its special structure. In terms of mitochondrial homeostasis, cardiolipin participates in the autophagy, fission, and fusion of mitochondria, and regulates the content and structure of mitochondria. In terms of function, cardiolipin plays a unique role in mitochondrial oxidative phosphorylation, cellular metabolite transport, and cell apoptosis. Changes in cardiolipin homeostasis, manifested by alteration in content, remodeling of acyl chains, and peroxidation, can lead to mitochondrial dysfunction and participate in pathophysiological processes in a variety of diseases associated with mitochondrial dysfunction. This article reviews studies of cardiolipin in the regulation of mitochondrial homeostasis and function, and introduces the role of cardiolipin in the pathogenesis of metabolic diseases, to promote the study of cardiolipin function and the treatment of related diseases.

**【Keywords】** Cardiolipin; Mitochondrial homeostasis; Mitochondrial function; Apoptosis; Endocrine disorders

**Fund program:** Natural Science Foundation of Shanghai Science and Technology Innovation Action Plan(21ZR1477900)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn121383-20230622-06041

心磷脂是特异性存在于线粒体内膜的一种脂质成分, 独特的结构使其在线粒体稳态和功能调节中发挥重要作用<sup>[1]</sup>。本文综述了心磷脂参与线粒体稳态维持和功能调节的研究进展, 并介绍了其在线粒体功能障碍相关内分泌疾病中的作用。

## 1 心磷脂的结构与代谢途径

心磷脂也叫双磷脂酰甘油, 它的两个磷脂酰基

团被中间的甘油桥连接, 含有 4 个酰基与 2 个负电荷。心磷脂的这种较小的头部基团和大的疏水尾巴形成了圆锥形结构, 使其可在脂水界面上施加负曲率。这种结构对嵴的高蛋白密度、广泛的膜折叠和连续的分裂融合特别重要。心磷脂代谢过程包括合成、重塑与降解几个过程。

心磷脂的合成在线粒体内膜(inner mitochondri-

al membrane, IMM) 基质侧进行, 初始底物是磷脂酸 (phosphatidic acid, PA)。PA 经 CDP-二酰甘油合酶、磷酸甘油酯合成酶、磷脂酰甘油磷酸酶和心磷脂合成酶 (CL synthase, CLS) 催化合成不成熟的心磷脂。心磷脂重塑是指不成熟的心磷脂在 Tafazzin、溶血心磷脂酰基转移酶 1 (lysocardiolipin acyltransferase 1, ALCAT1) 和单溶血心磷脂酰基转移酶 1 (monolysocardiolipin acyltransferase 1, MLCLAT1) 等酶的作用下, 形成成熟心磷脂的过程。心磷脂的降解比其他磷脂慢得多, 它可被磷脂酶降解。

## 2 心磷脂在线粒体稳态中的作用

心磷脂通过调控线粒体分裂、融合和自噬, 协调这些动态过程之间的平衡<sup>[2]</sup>, 从而改变线粒体的数量与形态, 维持线粒体正常功能。

MitoPLD 属于磷脂酶 D (phospholipase D, PLD) 超家族, 可通过水解心磷脂产生 PA 介导线粒体外膜的融合<sup>[2]</sup>, 且这一过程依赖于线粒体融合蛋白 (mitofusin, MFN) 1 和 2 介导的线粒体外膜的连接。视神经萎缩蛋白 (optic atrophy 1, Opa1) 介导线粒体内膜的融合<sup>[3]</sup>。Ban 等<sup>[3]</sup>在脂质体上研究发现心磷脂在 IMM 非对称性的融合中发挥重要的作用。当一个线粒体上的 L-Opa1 与相邻线粒体的 IMM 上富含心磷脂的结构域相互作用时, 融合才会发生。

线粒体分裂是一个多步骤的过程, 其中线粒体收缩的过程由动力蛋白相关蛋白 1 (dynamin-related protein1, Drp1) 介导。分裂时, Drp1 被募集至线粒体膜表面心磷脂密度较高的区域。在 Drp1 发生自组装的同时, 流动相的心磷脂分子结构也会发生改变, 原本层状的心磷脂变为非双层的、倒六边形结构, 从而降低了线粒体膜的流动性, 帮助线粒体分裂<sup>[4]</sup>。

线粒体自噬可去除功能受损的线粒体, 限制活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生, 维持细胞稳态。细胞应激, 比如线粒体膜去极化时, 心磷脂会从 IMM 迁移至 OMM, 并与微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated-protein-1-light chain-3, LC3) 结合, 促进自噬体的形成。心磷脂合成酶或磷脂加扰酶 (介导心磷脂从 IMM 迁移至 OMM) 敲除均会导致心磷脂与 LC3 相互作用减弱<sup>[5]</sup>。

## 3 心磷脂对线粒体功能的调节作用

线粒体对生物氧化、细胞凋亡和代谢物转运的调节依赖于蛋白质与脂质的互作。心磷脂可与结构各异的蛋白质相互作用, 其头部带负电的亲水结构域可与氨基酸之间形成强亲水相互作用或插入

到疏水性的蛋白质的裂隙中。因此, 心磷脂可以在一些蛋白复合体中发挥“胶水”的功能, 维持蛋白质结构和功能的稳定。

3.1 心磷脂在氧化磷酸化中的作用 心磷脂集中在电子传递链 (ETC) 蛋白、ATP 合成酶和膜转运蛋白附近, 对这些蛋白功能的发挥至关重要。ETC 由 4 种蛋白复合体组成 (复合体 I、II、III 和 IV), 催化电子从 NADH 和 FADH<sub>2</sub> 转移至氧分子。复合体 I、III 和 IV 可检测到心磷脂的特异性结合位点<sup>[6]</sup>。体外构建的纳米级脂质双层间接证明了心磷脂参与维持复合体 II 的稳定性。分析牛心肌线粒体中复合体 IV 的晶体结构发现, 去除心磷脂后, 相邻亚基发生解离。这说明心磷脂充当“胶水”, 维持复合体结构的稳定。功能方面, 去除心磷脂引起复合体 IV 的质子泵活性被完全抑制<sup>[7]</sup>。另外, ETC 中的蛋白复合体在 IMM 上以超级复合体 (supercomplexes, SCs) 形式存在, 而心磷脂重塑缺陷引起线粒体中 SCs 稳定性降低。

ATP 合成酶 (复合体 V) 倾向于组装成超分子复合体。心磷脂对 ATP 合成酶的寡聚化和有序排列至关重要。冷冻电镜断层图像分析发现, 野生型果蝇飞行肌线粒体嵴高曲率区富含 ATP 合成酶二聚体, 且高度有序排列。心磷脂合成酶或 Tafazzin 突变的果蝇线粒体中, ATP 合成酶在高曲率区密度下降, 且排列分散。ATP 合成酶 F<sub>0</sub> 结构域中的二环己基碳二亚胺结合蛋白与心磷脂特异性结合形成稳定的脂质-蛋白复合体, 促进稳定的非双层结构的形成, 从而促进质子的聚集和 ATP 合成酶复合物的成型<sup>[8]</sup>。

线粒体氧化磷酸化依赖于 ATP/ADP 载体 (mitochondrial ADP/ATP Carrier, AAC) 功能的正常发挥。AAC 存在胞质侧开放和基质侧开放两种构象状态。在两种构象状态下, 心磷脂的磷酸基团均可与 AAC 中带正电的口袋结构以氢键结合, 并发挥 AAC 中不同结构域之间连接桥的作用<sup>[9]</sup>。对 AAC 的晶体结构分析发现, AAC 单体上紧密结合有 2~3 个心磷脂。心磷脂还与多种线粒体载体蛋白相互作用, 包括磷酸盐载体、丙酮酸载体和三羧酸载体等<sup>[10]</sup>。

## 3.2 心磷脂在线粒体介导的细胞凋亡中的作用

线粒体外膜透化 (mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP) 诱导细胞凋亡。MOMP 下游的凋亡信号包括线粒体细胞色素 c (cytochrome c, Cytc) 的释放和含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶

(cysteiny aspartate specific proteinase, caspase) 激活。

心磷脂与 Cytc 相互作用对于启动细胞程序性死亡至关重要。细胞凋亡早期,心磷脂从 IMM 迁移至 OMM,并与线粒体膜上的 Cytc 结合,导致心磷脂的氧化。心磷脂还通过疏水作用破坏 Cytc 的三级结构,促进可溶性的 Cytc 从线粒体膜释放入胞质中。Cytc 表现为电子传递活性还是氧化活性与 Cytc 的构象有关。心磷脂结合至 Cytc 会引起 Cytc 构象呈现层状结构,并诱导 Cytc 的氧化活性。体外脂质体研究发现,Cytc 上含有两个不同位点可与心磷脂相互作用,分别称为 A-位点与 C-位点。A-位点是 Cytc 上带正电的赖氨酸残基,可与带负电的心磷脂磷酸基团相互作用,有助于 Cytc 发挥电子传递和清除自由基的功能。C-位点是 Cytc 上的天冬酰胺残基,通过氢键与心磷脂的磷酸基团结合,引起一条非饱和酰基链插入 Cytc 的疏水孔道中,并激活 Cytc 氧化活性。另外,心磷脂可以在 OMM 上为 Caspase8 提供平台,帮助其募集和功能的发挥<sup>[11]</sup>。BID 是 B 淋巴细胞瘤 2 蛋白家族中的一种促凋亡蛋白,可以被 Caspase8 剪切为 tBID, tBID 激活下游 Bax 和 Bak 蛋白在 OMM 的寡聚化,促进 MOMP。

#### 4 心磷脂异常的检测

对心磷脂定性、定量和定位的检测有助于研究心磷脂的功能。液相色谱-质谱(LC-MS)对于心磷脂的含量和结构的检测具有很高的灵敏度和选择性,但不能提供空间定位信息;成像质谱(MSI)可以显示心磷脂的定位,但实验基质的选择对实验结果影响较大,使 MSI 结果的可重复性低。这两种以质谱技术为基础的方法均无法实现活细胞中心磷脂的检测<sup>[12-13]</sup>。NAO 染色法操作简单,但灵敏度和选择性较低,遇光不稳定,且具有细胞毒性。HKCL-1M 是一种新型的荧光探针。相较于原有的检测心磷脂含量的手段,如 NAO 染色法与膜电位依赖性染色法, HKCL-1M 具有更高的灵敏度与选择性,并且可以在活细胞原位检测心磷脂。这项技术对于心磷脂研究和临床检测具有重要意义<sup>[13]</sup>。

#### 5 心磷脂异常相关内分泌疾病与治疗

心磷脂含量、酰基链结构和饱和度的异常均会使线粒体功能受损,可导致能量代谢障碍相关疾病,如 Barth 综合征。脂质在中枢神经系统中特别丰富,可调节膜流动性、电信号转导和突触稳定。心磷脂异常与神经元功能异常有关,并在衰老相关神经退行性疾病中发挥作用,如帕金森病和阿尔兹

海默病<sup>[14]</sup>。心磷脂酰基链中富含不饱和脂肪酸亚油酸,其中的双键结构使心磷脂易被氧化,这一特性使其参与许多与氧化应激有关疾病的发病,如缺血再灌注损伤。还有报道指出,心磷脂异常与肿瘤的发生有关<sup>[15]</sup>。Elamipretide(SS-31)是一种水溶性四肽,与心磷脂结合减少 Cytc-CL 复合体形成和氧化心磷脂的产生<sup>[16]</sup>。Elamipretide 可有效改善线粒体功能,在糖尿病、糖尿病肾病、肌腱病变、气道炎症和阿尔兹海默病中均具有良好疗效<sup>[17-20]</sup>。对 Elamipretide 在心磷脂异常相关疾病中作用和机制的研究及临床试验的开展有助于拓展疾病的治疗手段。本文重点介绍内分泌疾病中的心磷脂异常,如糖尿病和甲状腺功能异常(图 1)。

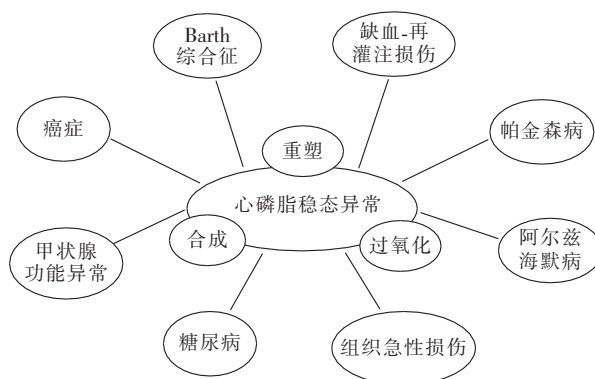


图 1 心磷脂异常与疾病

5.1 糖尿病 氧化应激与线粒体功能障碍促进了 2 型糖尿病患者细胞减少。昼夜节律紊乱显著增加 2 型糖尿病患病风险。有研究观察到昼夜节律紊乱人群的肌细胞中心磷脂含量下降<sup>[21]</sup>。在链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠模型中,可以观察到心肌细胞线粒体中心磷脂含量减少和心磷脂酰基链的重塑,引起酰基链中不饱和脂肪酸含量增加,使得心磷脂更易在 ROS 作用下过氧化。ALCAT1 是调节心磷脂重塑的酶之一。饮食诱导的肥胖小鼠模型中,氧化应激引起 ALCAT1 表达上调,介导心磷脂酰基链重塑,使心磷脂更易被氧化,并引起线粒体功能障碍,ROS 生成和胰岛素抵抗。在 ALCAT1 敲除的肥胖小鼠模型中,复合体 I 的活性显著提高,脂质氧化减少,胰岛素抵抗改善。在糖尿病肾病小鼠中,Elamipretide 显著增加了肾小球足细胞中线粒体数量,改善了线粒体嵴的形态<sup>[17]</sup>,这提示心磷脂是糖尿病潜在的治疗靶点。

5.2 甲状腺功能异常 心肌细胞、肝细胞等高能量需求细胞中心磷脂含量对于甲状腺功能的改变十

分敏感。给予大鼠甲状腺素可以观察到心肌细胞和肝细胞线粒体中心磷脂含量增加,并伴随 CLS 活性增加。而丙硫氧嘧啶诱导的甲低大鼠模型中线粒体心磷脂含量减少,对甲低大鼠补充甲状腺素则可以使线粒体心磷脂含量恢复。甲状腺功能异常可能通过影响 Cyt c 氧化酶活性导致能量代谢的异常。甲低大鼠中 Cyt c 氧化酶活性降低,而外源性补充心磷脂则有效恢复了 Cyt c 氧化酶的活性。甲状腺功能异常引起的心磷脂含量改变还会引起心肌细胞钙瞬变、钙衰变的异常,影响心肌细胞膜电位并最终导致心肌舒缩功能的改变<sup>[22]</sup>。甲亢伴随心肌细胞 ROS 生成增多。心肌细胞的高能量需求使其对甲亢相关的 ROS 损伤十分敏感。甲亢小鼠发生缺血-再灌注损伤时,线粒体生成更高水平的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,且更易肿胀。甲亢小鼠中线粒体中多不饱和脂肪酸二十二碳六烯酸和花生四烯酸含量增加,且 ALCAT1 mRNA 水平升高,说明心磷脂重塑参与甲亢发病过程。

## 6 结语与展望

作为线粒体内膜上一种特异性的磷脂,心磷脂在线粒体含量、结构与功能的调节中发挥重要作用。然而,心磷脂调节线粒体稳态与功能的机制尚未完全阐明。在生物氧化中,心磷脂参与 SCs 的组装与稳定的机制尚不明确。心磷脂在线粒体动力学、线粒体自噬和细胞凋亡中均发挥作用,但这个过程之间相互协调的机制仍需研究。目前对于心磷脂功能的研究以体外研究为主,构建有效的动物模型对于推动心磷脂功能的研究十分重要。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参 考 文 献

- [1] Basu Ball W, Neff JK, Gohil VM. The role of nonbilayer phospholipids in mitochondrial structure and function[J]. FEBS Lett, 2018, 592(8): 1273-1290. DOI: 10. 1002/1873-3468. 12887.
- [2] Kameoka S, Adachi Y, Okamoto K, et al. Phosphatidic acid and cardiolipin coordinate mitochondrial dynamics[J]. Trends Cell Biol, 2018, 28(1): 67-76. DOI: 10. 1016/j. tcb. 2017. 08. 011.
- [3] Ban T, Ishihara T, Kohno H, et al. Molecular basis of selective mitochondrial fusion by heterotypic action between OPA1 and cardiolipin[J]. Nat Cell Biol, 2017, 19(7): 856-863. DOI: 10. 1038/ncb3560.
- [4] Stepanyants N, Macdonald PJ, Franczy CA, et al. Cardiolipin's propensity for phase transition and its reorganization by dynamin-related protein 1 form a basis for mitochondrial membrane fission[J]. Mol Biol Cell, 2015, 26(17): 3104-3116. DOI: 10. 1091/mbc. E15-06-0330.
- [5] Chu CT, Ji J, Dagda RK, et al. Cardiolipin externalization to the outer mitochondrial membrane acts as an elimination signal for mitophagy in neuronal cells[J]. Nat Cell Biol, 2013, 15(10): 1197-1205. DOI: 10. 1038/ncb2837.
- [6] Musatov A, Sedláček E. Role of cardiolipin in stability of integral membrane proteins[J]. Biochimie, 2017, 142: 102-111. DOI: 10. 1016/j. biochi. 2017. 08. 013.
- [7] Musatov A, Robinson NC. Bound cardiolipin is essential for cytochrome c oxidase proton translocation[J]. Biochimie, 2014, 105: 159-164. DOI: 10. 1016/j. biochi. 2014. 07. 005.
- [8] Gasanov SE, Kim AA, Yaguzhinsky LS, et al. Non-bilayer structures in mitochondrial membranes regulate ATP synthase activity[J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2018, 1860(2): 586-599. DOI: 10. 1016/j. bbamem. 2017. 11. 014.
- [9] Ruprecht JJ, King MS, Zögg T, et al. The molecular mechanism of transport by the mitochondrial ADP/ATP carrier[J]. Cell, 2019, 176(3): 435-447. e15. DOI: 10. 1016/j. cell. 2018. 11. 025.
- [10] Paradies G, Paradies V, De Benedictis V, et al. Functional role of cardiolipin in mitochondrial bioenergetics[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1837(4): 408-417. DOI: 10. 1016/j. bbabio. 2013. 10. 006.
- [11] Raemy E, Martinou JC. Involvement of cardiolipin in tBID-induced activation of BAX during apoptosis[J]. Chem Phys Lipids, 2014, 179: 70-74. DOI: 10. 1016/j. chemphyslip. 2013. 12. 002.
- [12] Bautista JS, Falabella M, Flannery PJ, et al. Advances in methods to analyse cardiolipin and their clinical applications[J]. Trends Analyt Chem, 2022, 157: 116808. DOI: 10. 1016/j. trac. 2022. 116808.
- [13] Wang W, Wong NK, Bok SL, et al. Visualizing cardiolipin in situ with HKCL-1M, a highly selective and sensitive fluorescent probe[J]. J Am Chem Soc, 2023, 145(20): 11311-11322. DOI: 10. 1021/jacs. 3c00243.
- [14] Falabella M, Vernon HJ, Hanna MG, et al. Cardiolipin, mitochondria, and neurological disease[J]. Trends Endocrinol Metab, 2021, 32(4): 224-237. DOI: 10. 1016/j. tem. 2021. 01. 006.
- [15] Ahmadpour ST, Mahéo K, Servais S, et al. Cardiolipin, the mitochondrial signature lipid; implication in cancer[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 8031. DOI: 10. 3390/ijms21218031.
- [16] Whitson JA, Martín-Pérez M, Zhang T, et al. Elamipretide (SS-31) treatment attenuates age-associated post-translational modifications of heart proteins[J]. Geroscience, 2021, 43(5): 2395-2412. DOI: 10. 1007/s11357-021-00447-6.
- [17] Yang Q, Xie W, Wang X, et al. SS31 ameliorates podocyte injury via inhibiting OMA1-Mediated hydrolysis of OPA1 in diabetic kidney disease[J]. Front Pharmacol, 2022, 12: 707006. DOI: 10. 3389/fphar. 2021. 707006.
- [18] Ding XW, Robinson M, Li R, et al. Mitochondrial dysfunction and beneficial effects of mitochondria-targeted small peptide SS-31 in Diabetes Mellitus and Alzheimer's disease[J]. Pharmacol Res, 2021, 171: 105783. DOI: 10. 1016/j. phrs. 2021. 105783.
- [19] Zhang X, Bowen E, Zhang M, et al. SS-31 as a Mitochondrial protectant in the treatment of tendinopathy: evaluation in a murine supraspinatus tendinopathy model[J]. J Bone Joint Surg Am, 2022, 104(21): 1886-1894. DOI: 10. 2106/JBJS. 21. 01449.
- [20] Shang L, Ren H, Wang S, et al. SS-31 Protects liver from ischemia-reperfusion injury via modulating macrophage polarization[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 6662156. DOI: 10. 1155/2021/6662156.
- [21] Harmsen JF, van Polanen N, van Weeghel M, et al. Circadian misalignment disturbs the skeletal muscle lipidome in healthy young men[J]. FASEB J, 2021, 35(6): e21611. DOI: 10. 1096/fj. 202100143R.
- [22] D'Angelo V, Martinez C, Arreche N, et al. Thyroid hormone disorder and the heart: the role of cardiolipin in calcium handling[J]. Exp Physiol, 2023, 108(3): 412-419. DOI: 10. 1113/EP090817.

(收稿日期: 2023-06-22)