

综 述

线粒体动力学调控机制及其在肾脏病理生理学中的作用

谭子璇, 朱武政*

湖南师范大学生命科学学院动物营养与人体健康实验室, 长沙 410081

摘 要: 线粒体是一种动态变化的细胞器, 它通过不断的融合、分裂来维持线粒体的形态、数量和功能稳定, 这一过程称为线粒体动力学, 是线粒体质量控制的重要机制。线粒体的过度融合与分裂都会导致线粒体动力学的稳态失衡, 引起线粒体功能障碍, 导致细胞损伤甚至死亡。肾脏的生理活动主要由线粒体供能, 线粒体动力学稳态失衡影响着线粒体功能, 与急性肾损伤、糖尿病肾病等肾脏疾病密切相关。本文对线粒体动力学的调节、线粒体动力学稳态失衡如何导致线粒体损伤以及线粒体损伤对肾脏病理生理学的影响进行综述, 以加深对肾脏疾病中线粒体作用的理解与认识。

关键词: 线粒体融合; 线粒体分裂; 肾脏疾病

Regulatory mechanisms of mitochondrial dynamics and its emerging role in renal pathophysiology

TAN Zi-Xuan, ZHU Wu-Zheng*

Laboratory of Animal Nutrition and Human Health, College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China

Abstract: Mitochondria are dynamically changing organelles that maintain stable mitochondrial morphology, number, and function through constant fusion and division, a process known as mitochondrial dynamics, which is an important mechanism for mitochondrial quality control. Excessive fusion and division of mitochondria can lead to a homeostatic imbalance in mitochondrial dynamics, causing mitochondrial dysfunction, leading to cellular damage, and even death. The physiological functions of the kidney are mainly powered by mitochondria, and homeostatic imbalance in mitochondrial dynamics affects mitochondrial function and is closely related to renal diseases such as acute kidney injury and diabetic nephropathy. This article reviews the regulation of mitochondrial kinetics, how imbalances in mitochondrial kinetic homeostasis affect mitochondrial injury, and the impact of mitochondrial injury on renal pathophysiology, in order to improve understanding and knowledge of the role of mitochondria in renal disease.

Key words: mitochondrial fusion; mitochondrial fission; renal disease

线粒体是由双层膜组成的细胞器, 具有多种生物学功能, 在细胞供能、新陈代谢、细胞凋亡等重要生命活动中发挥着重要作用。严重的线粒体损伤会导致线粒体内膜、外膜通透性改变, 引起凋亡因子的释放, 促进细胞死亡。为了适应代谢及环境压力, 线粒体进化出多种质量控制机制, 包括线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 修复、线粒体动

力学 (融合与分裂)、线粒体自噬和线粒体生物合成等, 其中线粒体动力学在线粒体结构及功能维持中扮演着关键角色。线粒体动力学的存在使得线粒体的形态处于一个动态平衡的状态, 线粒体的融合与分裂促进线粒体之间物质交换、mtDNA 的维持以及受损线粒体的清除, 这有利于维持细胞内线粒体的稳定性^[1]。当受到氧化应激或压力时, 线粒体

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81900445), the Natural Science Foundation of Hunan Province, China (No. 2020J5388), and the Excellent Youth Fund of the Hunan Provincial Department of Education (No. 19B347).

*Corresponding author. E-mail: zhuwuzheng8@163.com

会通过融合、分裂调控来维持细胞稳态,一旦氧化应激或压力超过线粒体自身调控水平,便会引起线粒体动力学的失衡,导致线粒体损伤及功能障碍,严重时甚至可造成细胞死亡、组织损伤和相关的器官衰竭。

肾小管上皮细胞富含丰富的线粒体,仅次于心肌组织,这对于其通过氧化磷酸化生成大量 ATP 以满足重吸收过程中的能量需求具有重要意义,线粒体功能受损势必会导致肾小管上皮细胞供能不足,从而引起肾功能障碍。大量研究表明,线粒体过度分裂引起的线粒体片段化是导致急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI)、糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 等肾脏相关疾病的主要病理因素,因此维持线粒体稳态和质量控制对肾脏正常功能的发挥至关重要^[2]。本文将对线粒体动力学调控及其稳态失衡对肾脏相关疾病的影响及相关机制进行综述。

1 线粒体动力学

线粒体是一种动态变化的细胞器,它通过不断的融合、分裂来维持线粒体的形态、数量和功能稳定,这一过程称为线粒体动力学,是线粒体质量控制的重要机制。线粒体动力学是线粒体形态调控的基本方式,也是线粒体数目调控的基础,用以维持细胞的稳态,其最初在萌芽酵母和果蝇中发现^[3]。目前已有多篇文献报道线粒体动力学的分子机制以及其相关的多种生物学过程,如代谢、发育、自噬、衰老和凋亡^[4],而且线粒体动力学稳态失衡与神经退行性疾病、代谢紊乱以及癌症的发生均有着重要联系^[5,6]。

1.1 线粒体融合

线粒体融合主要分为两个步骤,首先两个相邻的线粒体靠近碰在一起,两者的外膜接触点进行融合,接着线粒体内膜再进行融合,两者融合的时间比较接近,有时几乎是同步的。大量研究发现,线粒体融合相关蛋白在不同生物或不同亚细胞位置中都有所不同,例如在哺乳动物中线粒体融合蛋白基因 (mitofusin, *Mfn*) 编码的 mitofusin 1 (*Mfn1*) 和 mitofusin 2 (*Mfn2*) 介导线粒体外膜的融合,而在果蝇和酵母中编码的蛋白为 Fzo (fuzzy onion); 线粒体内膜融合在酵母中由 mitochondrial genome maintenance 1 (*Mgm1*) 介导,而在哺乳动物中则由视神经萎缩蛋白 1 (optic atrophy 1, *OPA1*) 介导^[7,8]。

Mfn1/2 和 *OPA1* 是参与线粒体融合的核心蛋白,

由于线粒体外膜带负电荷,通常线粒体不会发生自发融合,需要 *Mfn1* 和 *Mfn2* 的参与才能进行融合。*Mfn1* 和 *Mfn2* 位于线粒体外膜, GTP 水解诱导 *Mfn* 构象变化,驱动线粒体外膜对接并增加接触表面积来形成同源二聚体或异源二聚体^[9], *Mfn1/2* 之间的反式相互作用使融合时线粒体之间形成拴系。*Mfn1* 起主要拴系作用,其 GTPase 活性比 *Mfn2* 更高,并且 *OPA1* 介导的线粒体融合主要由 *Mfn1* 协助, *Mfn2* 可能仅起辅助作用^[10-12],但是二者对于线粒体的融合均不可或缺。*Mfn1* 或 *Mfn2* 的缺失或下调均会使线粒体融合受阻,导致线粒体受损甚至严重的细胞缺陷^[13,14],在小鼠神经元中敲除 *Mfn2* 会导致大量浦肯野细胞变性以及小鼠小脑发育缺陷,表明 *Mfn2* 在浦肯野神经元中的线粒体分布和树突生长中起着重要作用^[15]。有研究通过免疫共沉淀和荧光共振能量转移证明 Bcl-2 (B-cell lymphoma-2) 家族的促凋亡因子 Bax (Bcl-2 associated X protein) 和 Bak (Bcl-2 homologous antagonist/killer protein) 与 *Mfn2* 和 *Mfn1* 相互作用,诱导细胞凋亡,表明 *Mfn1* 和 *Mfn2* 引起的线粒体形态学变化与细胞凋亡有着重要联系^[4]。

线粒体内膜融合主要由 *OPA1* 介导, *OPA1* 在线粒体中以面向膜间隙的内膜锚定蛋白和可溶性蛋白的形式存在,其存在 8 种亚型,是通过外显子 4、4b 和 5b 的差异剪接产生的 8 种不同 mRNA 剪接形式^[16]。在表达时, *OPA1* 通过 N-末端线粒体靶向序列 (mitochondrial targeting sequence, MTS) 进入线粒体中, MTS 下游的跨膜结构域具有停止转移信号的作用,将 *OPA1* 蛋白锚定在线粒体内膜中,其大部分仍存在于线粒体膜间隙中。锚定的 *OPA1* 称为 *OPA1* 长亚型 (long optic atrophy 1, L-*OPA1*), 会进一步被跨膜结构域下游的蛋白酶切割,生成不含跨膜结构域的 *OPA1* 短亚型 (short optic atrophy 1, S-*OPA1*)^[17]。目前已在 *OPA1* 上鉴定出两个分别被 OMA1 和 YME1L 蛋白酶作用的切割位点^[18],例如由差异剪接外显子 5b 编码 S2 蛋白水解位点可被 YME1L 蛋白酶切割而产生不同的短异构体, OMA1 和 YME1L 蛋白酶可根据细胞状态调节 *OPA1* 的加工和融合活性^[19-22]。

与 *Mfn1/2* 不同,当细胞仅表达 L-*OPA1* 或 S-*OPA1* 时,几乎检测不到线粒体融合^[23],只有当 S-*OPA1* 与膜结合的 L-*OPA1* 异构体形成复合体时,线粒体才能大量融合^[24],并且 *OPA1* 直接参与 mtDNA 维

持和嵴形成。研究发现, 缺乏 OPA1 的细胞仅存在线粒体外膜融合, 线粒体内膜不发生融合, 最终融合失败的线粒体会被降解^[25]。S-OPA1 本身无明显融合活性, 但其对融合具有调节作用, 在体外细胞中加入 S-OPA1 可增强 L-OPA1 的体外膜融合活性, 值得注意的是, 当加入含有心磷脂的脂质体时, S-OPA1 能单独介导 GTP 依赖的融合。但是也有研究表明, S-OPA1 会促进分裂, 在病理条件下, 线粒体功能障碍会激活 Oma1 蛋白酶切割 OPA1 的 S1 位点^[26], 使 OPA1 转化为 S-OPA1, 抑制线粒体融合^[9], 而 L-OPA1 本身能够介导一定的线粒体融合, 在缺乏 OMA1 和 YME1L 蛋白酶的细胞中, OPA1 不能加工成短亚型, 但细胞中仍存在线粒体融合^[18]。以上研究表明, OPA1 的长亚型和短亚型本身都具有一定的融合活性, 但在正常情况下, L-OPA1 或 S-OPA1 各自很少甚至不显示融合活性, 而 S-OPA1 可以显著调节 L-OPA1 的融合活性, 事实上, 正是因为 L-OPA1 被切割成短亚型激活了它的融合活性^[25]。OPA1 和线粒体分裂相关蛋白介导的线粒体动力学使线粒体成为一个高度敏感的细胞应激反应网络, OPA1 表达的增加或降低都会引起线粒体融合的改变。

1.2 线粒体分裂

线粒体分裂是线粒体内膜和外膜先后产生环状结构, 缢缩分离, 从而一分为二, 变为两个较小体积的线粒体的过程。近年研究表明, 在动物和植物细胞中, 线粒体分裂都与一类发动蛋白有关, 在不同生物中编码的基因相同, 但蛋白有所不同, 例如在线虫和哺乳动物中调控线粒体分裂的蛋白主要由 Drp1 (dynamin-related protein 1) 介导, 在酵母中由 Dnm1 (dynamin 1) 介导, 在大鼠中由 Dlp1 (dynamin like protein 1) 介导, 而在植物中由 ABL2B (arabidopsis thaliana like-protein 2B) 介导, 线粒体分裂蛋白在这些真核生物中显示出同源性, 表明在生物进化中线粒体分裂相关蛋白高度保守^[27]。

在哺乳动物中, Drp1 作为线粒体分裂的主要蛋白, 在生理状态下一般以可溶性蛋白质的形式位于细胞质中, 主要由氨基端 GTPase 结构域、中间的螺旋结构域和羧基端 GTPase 效应结构域构成。Drp1 本身不具有膜定位功能, 因此需要线粒体分裂蛋白 1 (mitochondrial fission 1 protein, Fis1)、线粒体分离蛋白 1 (mitochondrial division protein 1, Mdv1) 或 Caf4 (CCR4 associated factor 4) 等参与, 其中 Fis1

是介导哺乳动物细胞线粒体分裂的另一个关键组成部分^[28]。在线粒体分裂因子 (mitochondrial fission factor, Mff) 诱导的作用下, Fis1 的 C 端跨膜结构定位于线粒体外膜, N 端朝向细胞质招募 Mdv1 或 Caf4, Mdv1 同时结合 Drp1 和 Fis1, 将 Drp1 定位于线粒体外膜上^[29–31]。此时, 位于线粒体外膜中的 MiD49 (mitochondrial dynamics proteins of 49 kDa) 和 MiD51 (mitochondrial dynamics proteins of 51 kDa) 在线粒体外膜表面形成分裂诱导环, Drp1 自组装成环线粒体的纤维状结构, 在其 GTPase 作用下发生缠绕缢缩, 使线粒体一分为二, 线粒体分裂后 Drp1 会重新回到胞浆进行再利用^[31–38]。Mff、MiD49 和 MiD51 在介导 Drp1 向线粒体募集过程中具有非常重要的作用, 这些蛋白中的任何一个缺失都会导致线粒体的显著延长, 当三种蛋白都缺失时会导致类似于 Drp1 缺失所引起的线粒体分裂障碍^[31, 32, 39]。Mff 缺失会阻碍 Drp1 向线粒体转位, 进而抑制线粒体分裂, 而 Mff 的过表达则增强线粒体的分裂, 相比之下, MiDs 的作用方式更为复杂, 其低水平表达导致线粒体分裂增强, 但过度表达则会引起线粒体延长, 当细胞处于应激状态时, MiDs 诱导 Drp1 激活, 这些延长的线粒体会快速分裂^[40]。虽然这三个蛋白分子都可以独立地将 Drp1 募集到线粒体, 但有研究表明 MiDs 和 Mff 在 Drp1 复合物中相互作用来调节线粒体分裂^[41], 而其具体相互作用机制还有待进一步研究。

Drp1 的活性受到多种翻译后修饰的调控^[30], 如磷酸化^[42–45]、去磷酸化^[46, 47]、泛素化^[48]和 S-亚硝基化^[49]等。周期蛋白依赖性激酶 1 (cyclin-dependent kinases 1, CDK1) 能对 Drp1-Ser616 位点进行磷酸化, 促进 Drp1 在线粒体中的转位, 从而诱导有丝分裂过程中的线粒体分裂^[43, 50]; 在癌细胞中细胞外信号调节蛋白激酶 1/2 (extracellular signal-regulated protein kinases 1/2, ERK1/2) 也能对 Drp1-Ser616 位点进行磷酸化, 诱导线粒体分裂, 从而促进肿瘤生长^[51]。此外, Ser637 位点的磷酸化水平对 Drp1 的活性也有着重要的影响, 研究表明, Drp1 在 Ser637 位点的磷酸化可以由不同的蛋白激酶介导, 但不同的蛋白激酶对 Drp1-Ser637 磷酸化所产生的效果却不尽相同^[44]: 依赖于 cAMP 的蛋白激酶 A (cyclic-AMP dependent protein kinases A, PKA) 介导的 Drp1-Ser637 磷酸化能抑制 Drp1 的活性及其线粒体转位, 从而抑制凋亡; 而在糖尿病中, 高糖刺激诱导 Rho 相关

的卷曲蛋白激酶 1 (Rho-associated coiled-coil containing protein kinase 1, ROCK1) 的活化, 但 ROCK1 对 Drp1-Ser637 的磷酸化却会促进 Drp1 向线粒体转位, 引起线粒体片段化、氧化损伤及细胞凋亡^[52]。此外, 还有研究表明, Ca^{2+} /钙调素依赖性蛋白激酶 I α (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase I α , CaMKI α) 同样会对 Drp1-Ser637 磷酸化, 进而促进线粒体分裂^[53]。因此, Ser616、Ser637 位点的磷酸化对于 Drp1 介导的线粒体分裂有着不同的影响, 在不同的病理条件下, 不同的激酶对于同一位点磷酸化产生的生物学作用也不相同。此外, Drp1 的活性还受到泛素化修饰的调控, 通过 siRNA 抑制线粒体泛素 E3 连接酶 MARCH5 (membrane-associated RING-CH5) 的表达或者采用基因突变抑制其活性, 会导致 Drp1 在线粒体的异常组装, 从而阻碍 Drp1 依赖的线粒体分裂^[48, 54]。另外, Drp1 的活性还受到亚硝基化修饰的调控, Drp1 在 Cys644 位点的蛋白质巯基亚硝基化, 会促进线粒体分裂^[55]; 而在高糖环境中, 升高的同型半胱氨酸通过亚硝基化 Drp1 增加 Drp1 的活性, 促进线粒体片段化, 并诱导细胞凋亡^[56]。

2 线粒体动力学与线粒体形态功能

在生理条件下, 细胞中线粒体融合与分裂保持在一个相对稳定状态, 以维持细胞内环境的稳态; 在病理状态下, 这种平衡被打破, 线粒体更多分裂成球体或短棒状, 引起线粒体片段化。线粒体动力学对线粒体形状的维持、功能、遗传和质量控制都十分重要, 动力学相关蛋白的缺陷会引起线粒体形态学的巨大改变以及内膜、外膜的结构变化, 导致 mtDNA 结构和功能受损, 最终造成细胞死亡。

2.1 活性氧(reactive oxygen species, ROS)

氧化磷酸化解耦联和线粒体膜完整性的丧失导致呼吸链产生过量的 ROS, 这是病理条件下 ROS 的主要来源。同时, 线粒体也是 ROS 损伤的关键靶点, 氧化损伤导致线粒体功能障碍、线粒体通透性改变以及细胞色素 c 等促凋亡蛋白的释放, 从而诱导细胞凋亡。ROS 产生与线粒体动力学之间存在着重要联系, 例如在糖尿病引起的冠状动脉微血管内皮功能障碍中, 线粒体动力学紊乱会诱导氧化应激, 导致 ROS 激增, 破坏代谢并激活内皮细胞凋亡^[57]。在细胞培养中, 诱导线粒体快速分裂导致胞内 ROS 的激增, 抑制线粒体分裂能降低 ROS 的产生; 在糖尿病模型中, 通过 siRNA 下调 Fis1 或 Drp1

可以抑制人内皮细胞 ROS 的激增和一氧化氮合酶的激活^[58, 59], 以上结果表明, 线粒体动力学紊乱所造成的线粒体损伤会导致 ROS 的增加, ROS 激增与线粒体动力学稳态失衡之间有着复杂的调控关系, 在一定条件下, 二者相互影响, 形成恶性循环, 最终导致细胞损伤甚至死亡。

2.2 mtDNA

线粒体受双重基因组控制, mtDNA 编码极小部分的线粒体蛋白, 而 99% 以上的线粒体蛋白由核 DNA (nuclear DNA, nDNA) 编码, 在细胞质中合成再导入线粒体中。mtDNA 是封闭的环状分子, 是由两条链交织组成双螺旋结构, 两条链分别为重链和轻链: 重链编码 28 个基因, 轻链编码 9 个基因, 共 37 个, 其中只有 13 个基因编码的蛋白质在线粒体能量产生中起主要作用, 有 7 个基因编码电子传递链中的质子泵, 用于接受 NADH 的电子, NADH 脱氢酶的基因突变会影响能量平衡, 甚至导致细胞死亡。随着年龄增长, mtDNA 突变会积累, 因此 mtDNA 相对 nDNA 来说有着更高水平的突变, mtDNA 突变大量积累会引起细胞的供能不足及氧化应激, 最终导致衰老^[60, 61]。

线粒体融合和分裂都是维持 mtDNA 所必需的^[62], 在线粒体分裂被抑制时, mtDNA 聚集造成线粒体变形, 又因氧化磷酸化活性集中在 mtDNA 周围, 此时 mtDNA 的不均匀分布或缺陷会导致线粒体呼吸链氧化磷酸化障碍。线粒体通过融合交换线粒体内的物质维持线粒体蛋白的平衡, 这些蛋白包括 mtDNA 合成酶, 因此, 线粒体融合缺陷会导致 mtDNA 合成受损以及缺失^[63, 64]。Lee 等研究显示, 线粒体融合对小鼠 mtDNA 复制的准确性和稳定性有着很大影响^[65], 线粒体融合蛋白表达水平的降低会使突变 mtDNA 水平升高, 表明线粒体融合可通过稀释缺陷的线粒体降低突变 mtDNA 的有害影响^[63]。在多种类型细胞中, 线粒体融合蛋白的缺失都会导致氧化磷酸化活性降低^[66], 目前已知 OPA1 不仅在线粒体内膜融合中起到重要作用, 而且在嵴结构和氧化磷酸化复合物的维持中也起着作用^[67-69], 但尚不清楚氧化磷酸化功能障碍是否完全由于 mtDNA 水平降低或是涉及其他线粒体融合相关的机制。

2.3 细胞死亡

线粒体通过隔离细胞色素 c、Smac/Diablo、HtrA2/Omi、内切酶 G 和凋亡诱导因子 (apoptosis-

inducing factor, AIF) 等凋亡蛋白, 在调节细胞程序性死亡中发挥重要作用, 细胞凋亡过程中这些因子的释放受到包括 Bax 和 Bak 的 Bcl-2 家族蛋白的调控, 这些蛋白在健康细胞中通常处于不活跃状态^[70]。定位于线粒体外膜上的 Bcl-2 主要从三个方面发挥抗凋亡作用: 首先是通过抑制谷胱甘肽的释放, 降低线粒体巯基的氧化还原状态, 从而维持线粒体膜电位, 最终抑制细胞凋亡; 其次是通过调节线粒体外膜通透转运孔 (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) 抑制细胞色素 c 和 AIF 等促凋亡蛋白的释放, 最终抑制细胞凋亡; 最后是通过与天冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白水解酶 (Caspase) 的间接作用, 将 Apaf-1 定位于线粒体膜, 对其结构进行调控, 进而阻止细胞色素 c 作用的发挥, 最终阻止细胞凋亡。在细胞中, Bax 多以非活性单体形式分布于胞质中, 只有在接收到凋亡信号刺激后, Bax 才被激活进而发生分子构象改变, 移位并插入线粒体外膜后形成 Bax/Bak 同源二聚体蛋白通道, 改变线粒体膜的通透性, 促进细胞色素 c 的释放以及 Caspase 的激活, 最终导致细胞凋亡^[71]。在细胞凋亡过程中往往伴随着炎症的发生, 此时线粒体外膜通透性的改变使得 mtDNA 释放到胞质中, 其随后激活 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3), 进而促进白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-18 释放到胞外, 最终诱导炎症的发生^[72]。

线粒体过度分裂是细胞凋亡的早期事件, 其发生的时间非常接近细胞色素 c 释放的时间, 通常损伤的线粒体中存在细胞色素 c。线粒体在凋亡过程中发生片段化可能是由于过度分裂或融合不足所致, 但线粒体分裂并不一定会诱导细胞凋亡, 例如, vMIA (viral mitochondria-localized inhibitor of apoptosis) 会导致线粒体的片段化, 但其同时会阻止细胞毒性药物所诱导的细胞凋亡^[73]。Drp1 以及 Fis1 参与了细胞程序性死亡过程, 线粒体过度分裂似乎是细胞凋亡途径中细胞色素 c 释放和 Caspase 激活的重要程序。在凋亡因素刺激下, Drp1 被招募到线粒体外膜, 它与 Bax 同时处于分裂位点, 使用 siRNA 下调 Drp1 的表达水平, 可使从胞质转位的 Drp1 非常接近 Bax 在线粒体上的作用部位, 最终抑制线粒体片段化、细胞色素 c 的释放、Caspase 的激活和细胞凋亡, 这表明 Drp1 的功能是凋亡细

胞中线粒体分裂所必需的 (图 1)。此外, 抑制线粒体融合也会促进细胞凋亡, 沉默 *Mfn1* 或 *Mfn2* 的表达会导致线粒体片段化, 增加对凋亡刺激的敏感性, 而 *Mfn1* 或 *Mfn2* 过表达则会抑制 Bax 的激活和细胞色素 c 的释放^[74]。

3 线粒体动力学稳态失衡与肾脏疾病

线粒体损伤会引起线粒体的功能障碍, 使得线粒体呼吸链产能减少、ROS 产生增加以及 mtDNA 受损^[75], 从而导致肾脏功能障碍, 同时线粒体在细胞损伤和死亡信号中也起着核心作用。线粒体在细胞损伤过程中会过度分裂而发生显著的形态变化, 即线粒体片段化, 并且线粒体片段化还会导致线粒体膜通透性改变, 引发细胞凋亡^[76]。此外, 大量研究表明, 在 AKI、DN 等多种肾脏疾病及肾纤维化的病理过程中, 肾脏细胞中原来的线粒体网络变得支离破碎, 这使得线粒体膜通透性增加, 导致细胞色素 c 以及 AIF 释放, 进而导致细胞凋亡^[77], 这表明线粒体过度分裂引发的线粒体片段化与肾脏疾病密切相关^[78] (图 2)。

3.1 AKI

AKI 分为肾前性损伤、肾小管上皮细胞损伤和肾后性损伤, AKI 病因复杂, 其中缺血 / 再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) (由休克、心脏及肾移植手术等引起)、脓毒症以及肾毒性药物 (造影剂、抗生素及化疗药物等) 的使用是导致 AKI 的主要原因, AKI 的发生受到多方面因素的影响, 并且涉及肾脏组织的多种细胞类型, 其中近端小管上皮细胞损伤及死亡被认为是导致 AKI 的主要病理因素, 并且 AKI 后的不完全修复还会极大增加患慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 的风险。

大量研究表明, 线粒体功能障碍及其动力学稳态失衡在 AKI 的病理进展中起着重要的促进作用, 在不同程度的 AKI 中都可观察到线粒体肿胀和片段化, 并伴随 ATP 生成减少, ROS 激增以及细胞色素 c 释放^[79]。在肾 I/R 或顺铂诱导的 AKI 小鼠模型中, 在肾脏功能被检测出下降之前就可观察到明显的线粒体损伤, 线粒体片段化的出现往往先于肾小管细胞凋亡, 而抑制线粒体过度分裂可减轻肾小管细胞凋亡和肾脏损伤^[77]。此外, 脓毒症诱导的 AKI 模型中也发现线粒体动力学稳态失衡, 且随着时间的推移, 线粒体依赖的细胞凋亡明显增加^[80]。肾小管上皮细胞是 AKI 中对损伤因子最为敏感的细胞,

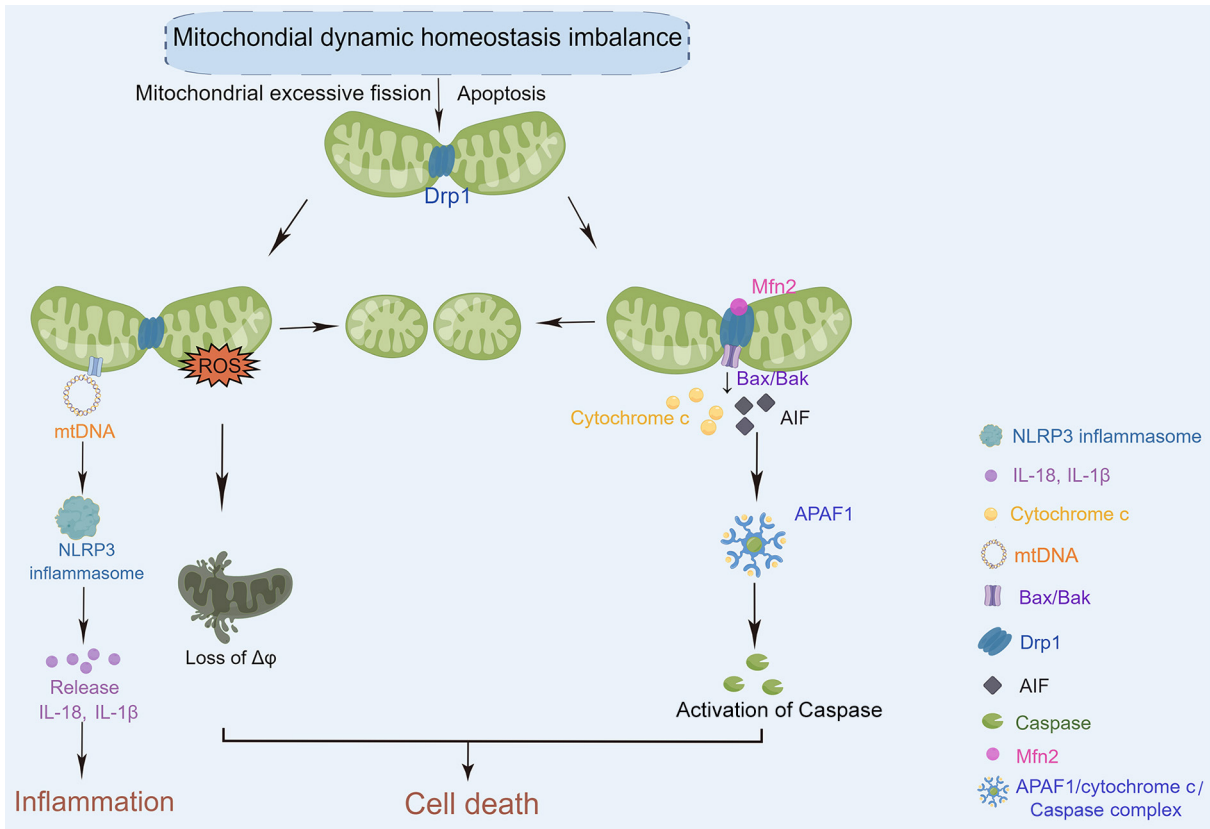


图 1. 线粒体与细胞死亡

Fig. 1. Mitochondria and cell death. The imbalance of mitochondrial dynamics can lead to excessive mitochondrial division and apoptosis. At this time, mitochondrial bodies release cytochrome c to activate Caspase, while mitochondria release ROS to cause changes in mitochondrial membrane potential and induce cell death. During apoptosis, the release of mitochondrial DNA (mtDNA) causes inflammation. Bax, Bcl-2 associated X protein; Bak, Bcl-2 homologous antagonist/killer protein; NLRP3, NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3; APAF1, apoptotic protease activating factor-1; IL-18, interleukin 18; IL-1β, interleukin-1β; ROS, reactive oxygen species; Δψ, transmembrane potential; AIF, apoptosis-inducing factor. The figure was created by Figdraw.

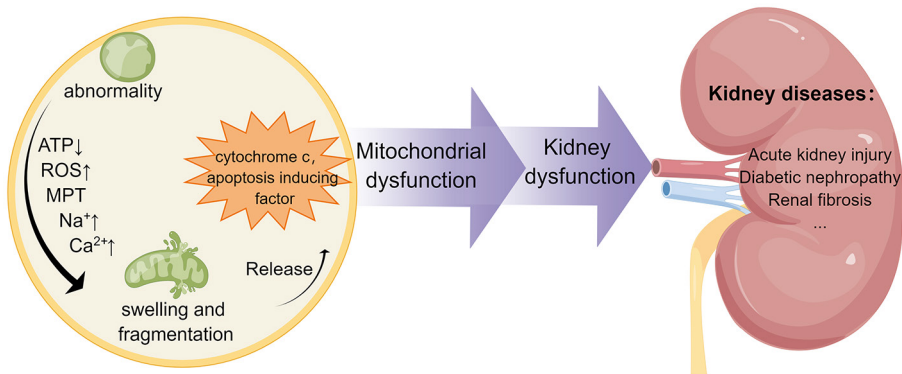


图 2. 线粒体损伤与肾脏疾病

Fig. 2. Mitochondrial damage and kidney diseases. An imbalance in mitochondrial dynamics homeostasis causes mitochondrial damage, which results in a decrease in mitochondrial respiratory chain production, an increase in ROS production, and an alteration in mitochondrial permeability, increasing intracellular Na⁺ and Ca²⁺ concentrations, leading to mitochondrial swelling and fragmentation and the release of cytochrome c and apoptosis-related factors. Mitochondrial dysfunction then leads to renal dysfunction, resulting in a variety of renal diseases. ATP, adenosine-triphosphate; ROS, reactive oxygen species; MPT, mitochondrial permeability transition. The figure was created by Figdraw.

缺血或肾毒性药物刺激会引起 Drp1-Ser637 位点的磷酸化, 促进 Drp1 向线粒体转位^[46], 在 I/R 模型中, Drp1 的激活促进了线粒体过度分裂和凋亡, 通过 Drp1 抑制剂 mdivi-1 以及 siRNA 降低 *Drp1* 表达水平均可抑制线粒体的片段化、细胞色素 c 的释放、Caspase 的激活以及细胞凋亡^[81]。

在 AKI 中, 线粒体动力学及线粒体功能受到众多分子信号网络调控。SIRT3 作为一种线粒体特异的去乙酰化酶, 在线粒体的功能维持及完整性中起着重要作用, 在顺铂诱导的 AKI 模型中, *Sirt3* 过表达可抑制 Drp1 从胞浆向线粒体转位, 从而抑制顺铂刺激诱导的线粒体过度分裂, 而 *Sirt3* 的敲除则会加剧顺铂诱导的小鼠 AKI^[82]。在 I/R 诱导的 AKI 模型中, *Sirt3* 的敲低可促进 Mfn2 的泛素化, 从而导致线粒体过度分裂以及细胞凋亡; 而 *Sirt3* 过表达能促进 Mfn2 的去泛素化, 从而抑制小管细胞凋亡, 改善肾脏功能^[83]。此外, 植物多酚类化合物——和厚朴酚可通过激活 SIRT3-AMPK 信号轴恢复 Drp-Ser637 位点的磷酸化, 介导线粒体动力学稳态重塑, 从而改善顺铂诱导的 AKI^[84]。

线粒体解耦联蛋白 2 (uncoupling protein 2, UCP2) 是线粒体分裂的负性调节因子, 同样是小鼠 I/R 模型, 相比野生小鼠, *Ucp2*^{-/-} 小鼠线粒体片段化和肾脏损伤程度更加严重, 而在肾脏中通过慢病毒转染过表达 *Ucp2* 能显著抑制肾脏缺血引起的线粒体片段化及肾脏损伤^[85]。此外, 线粒体融合抑制也会引起 AKI 中线粒体的片段化以及小管细胞的凋亡。OMA1 蛋白的激活会促进融合蛋白 OPA1 的降解, 在 I/R 诱导的小鼠 AKI 模型中, *Oma1* 敲除会抑制缺血诱导的 OPA1 蛋白降解, 且与野生小鼠相比, *Oma1*^{-/-} 小鼠小管上皮细胞线粒体片段化和肾脏损伤程度较轻^[86]。Gall 等在 I/R 体外模型中发现, *Mfn2* 敲除后细胞的损伤和凋亡程度更加严重, 而在 *Mfn2* 基因敲除小鼠模型中肾脏的损伤较轻且存活率更高^[87]。

在 AKI 发生后, 线粒体分裂相关蛋白水平会持续升高, 导致能量代谢降低以及 ROS 激增, 从而加重组织损伤和炎症, 对肾脏产生不利影响^[81, 88]。线粒体分裂所引起的损伤与 ROS 激增密切相关, 并且影响细胞凋亡^[89], 例如在低氧条件下, Nix 和 BNIP3 的激活会引起 ROS 和促凋亡蛋白 Bax 和 Bak 的释放^[89]。而在 I/R 小鼠模型中, 肾小管细胞出现线粒体功能障碍、形态损伤严重、ROS 激增以

及凋亡水平增加, 而敲除 *Bax* 和 *Bak* 能有效抑制 I/R 诱导的小鼠小管上皮细胞线粒体片段化以及细胞色素 c 的释放^[90]。

3.2 DN

DN 是糖尿病全身性微血管并发症之一, 约 40% 的 1 型糖尿病和 5%~10% 的 2 型糖尿病患者会发生 DN。DN 的病理特征主要包括: 肾小球系膜增生、基底膜增厚、足细胞损伤、肾小管肥大和间质纤维化。此外, DN 是 CKD 和终末期肾病 (end stage renal disease, ESRD) 的主要原因之一, 慢性高血糖会导致肾小球、肾小管和间质细胞功能障碍, 最终发展为慢性肾功能衰竭。在 DN 发展过程中, 高血糖导致线粒体三羧酸循环产生的电子供体 NADH 和 FADH₂ 超过了线粒体电子传输链的能力, 多余的电子与氧结合生成超氧化物, 参与高滤过率、内皮损伤、微血管病变和蛋白尿有关的有害代谢途径, 从而产生过量的糖基化终末产物^[91]。随着机体内 ROS 量积累增多以及近端小管^[21]、内皮细胞^[92]和足细胞^[93]中线粒体膜电位降低, 受损线粒体会启动线粒体自噬的信号, 调动线粒体质量控制机制进行一定程度上的抗氧化调控, 当 ROS 生成水平超过局部抗氧化能力时, 便标志着糖尿病肾脏线粒体功能障碍。

近年来, 人们越来越重视 DN 的早期肾脏病理改变, 将 DN 早期分为肾小球高滤过期、基底膜增厚伴系膜区扩张以及微量蛋白尿期。在糖尿病早期未出现蛋白尿和肾小球病变时, 近端肾小管上皮细胞中就出现线粒体片段化以及 ATP 含量下降, 随后线粒体通透性转变并出现氧化应激和肾小球的改变; 长期高血糖使糖尿病患者出现明显的肾小管损伤并伴随氧化磷酸化增加以及 ATP 含量减少, 表明线粒体解耦联并且呼吸链产生大量 ROS^[94]。线粒体动力学的改变与细胞凋亡密切相关, 在高糖处理后肾小管上皮细胞出现大量线粒体片段化, 并伴随细胞色素 c 的释放以及细胞凋亡^[95]。2 型糖尿病患者肾脏中线粒体分裂增加, 导致线粒体融合相对减少, 而在长期 DN 患者的肾脏中, 线粒体分裂占主导, 线粒体融合减少更加明显^[96]。研究显示, 足细胞 *Drp1* 敲除会改善糖尿病小鼠模型中的线粒体功能障碍, 这表明 Drp1 及其相关线粒体动力学在 DN 线粒体功能障碍的调节中起重要的促进作用^[97]。

通过改善线粒体动力学恢复线粒体质量控制网络, 对 DN 有一定改善作用。研究显示, ROCK1

的激活促进 Drp1 向线粒体转位, 并通过磷酸化 Drp1 促进线粒体分裂; 在链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠模型中, *ROCK1*^{-/-} 会抑制线粒体分裂和 ROS 激增, 并恢复肾功能^[98]。褪黑素的抗氧化活性通过降低 Drp1 的表达水平并增加 Mfn2 和 OPA1 的表达水平来调节线粒体动力学, 进而改善大鼠 DN, 此外, 褪黑素还可通过增加电子转移链复合物 IV 活性以及降低线粒体 ROS 水平改善线粒体功能障碍^[99]。在 2 型糖尿病 *db/db* 小鼠模型中, Drp1、Fis1 以及 Mff 的表达水平显著上调, 中草药黄芪甲苷可恢复线粒体动力学稳态, 减轻肾脏损伤水平^[100], 而在链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠上特异性过表达 *Mfn* 会降低 ROS 水平, 并减轻糖尿病小鼠肾脏的病理变化^[95]。在 2 型糖尿病体内外模型中, 线粒体的 OPA1 和 Mfn1 表达水平受到抑制, 钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 (sodium-dependent glucose transporter 2, SGLT2) 抑制剂通过恢复 OPA1 和 Mfn1 表达水平改善线粒体动力学稳态, 从而对肾脏发挥保护作用^[101]。

3.3 肾纤维化

肾纤维化包括肾小球和肾小管间质纤维化, 几乎所有 CKD 在发展为 ESRD 时都会出现肾纤维化, 肾纤维化的特点是 I、III 和 IV 型胶原、纤维连接蛋白和各种蛋白聚糖等在肾组织基底膜和肾间质不恰当的积聚和分布, 导致正常组织结构破坏, 肾功能丧失^[102]。在肾损伤发生后, 纤维化基质的积聚最初可能有助于组织的修复过程, 在轻度损伤时它在组织修复过程中会被吸收, 然而在 CKD 长期发生时纤维化基质的积聚不再受控制, 最终破坏肾脏结构、减少血液供应并干扰肾功能^[103]。线粒体功能障碍与 CKD 的进展密切相关, 在 ESRD 患者中 ROS 激增以及线粒体呼吸复合物 IV 降低^[104], 调节线粒体功能障碍有利于改善肾纤维化和肾小球硬化^[105]。

调控成纤维细胞线粒体动力学成为治疗肾纤维化的新策略, 相比人类和小鼠正常肾成纤维细胞, 发生纤维化的肾成纤维细胞线粒体片段化水平更高, 即线粒体分裂水平更高^[106, 107]。在单侧 I/R 小鼠模型中特异性敲除 *Drp1* 会使小鼠肾脏纤维化水平显著改善, 表明 *Drp1* 的敲除和相关的线粒体动力学的改变会促进 AKI 后的肾脏修复^[81]。在转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 诱导的肾纤维化模型中, 通过 Drp1 抑制剂 mdivi-1 以及 siRNA 降低 Drp1 的表达水平能减轻线粒体功能障碍、成纤维细胞积聚以及间质纤维化^[108]。在

梗阻性肾病小鼠模型中, 纤维化肾脏中 Drp1-Ser616 位点磷酸化水平显著增加, 而抑制 Drp1-Ser616 位点磷酸化所诱导的线粒体分裂可减少肾纤维化中成纤维细胞的激活和增殖^[106]。

研究显示, 用 TGF- β 1 处理骨髓来源的巨噬细胞后, 其 Mfn1 和 Mfn2 的表达水平显著降低, 而特异性地敲除 *Mfn2* 后, 在纤维化期间与胶原积聚相关的巨噬细胞会转移到肾脏中, 导致肾功能持续恶化^[83]。在 5/6 肾切除的大鼠肾纤维化模型中, 中药肾衰 II 号通过改善线粒体动力学减轻慢性肾病纤维化, 而在缺氧诱导的肾纤维化体外模型中, *Mfn2* 敲除后肾纤维化相关蛋白、TGF- β 1 以及炎症因子 IL-1 β 的水平显著增加^[109]。药物吡格列酮在肾纤维化体内外模型中会增加 OPA1 和 Mfn2 的表达水平, 并抑制 Drp1 的表达, 从而发挥对肾脏的保护作用, 此外, 吡格列酮还通过维持线粒体膜电位保护线粒体功能、抑制 ROS 的生成、维持 ATP 的产生以及复合物 I 和 III 的活性, 并阻止线粒体细胞色素 c 的释放^[110]。

4 展望

此前学者们的注意力往往集中在线粒体的能量代谢上, 但随着研究的进展, 人们越来越清楚地认识到线粒体的作用并不仅仅局限于能量生产, 在病理条件下线粒体动力学会发生改变, 引起膜通透性的变化, 从而导致线粒体损伤。研究表明, 线粒体动力学对于受损线粒体可以进行一定的调控和修复^[111], 而线粒体损伤与肾脏疾病密切相关^[9], 因此, 线粒体动力学紊乱对 AKI 以及 DN 等肾脏疾病有着极大影响, 针对线粒体动力学恢复线粒体功能的干预措施已成为预防和治疗肾脏损伤和加速肾脏修复的新兴治疗策略。

目前, 线粒体动力学与肾脏疾病之间关系的研究大多还停留在体外细胞实验或动物实验, 有关线粒体动力学稳态调控在肾脏损伤及其修复过程中的具体分子机制和潜在的不良反应还有待阐明, 因此其在临床上的应用还面临着一定的挑战, 亟待更加深入的研究。

参考文献

- 1 Zemirli N, Morel E, Molino D. Mitochondrial dynamics in basal and stressful conditions. *Int J Mol Sci* 2018; 19(2): 564.
- 2 Tang C, Cai J, Yin XM, Weinberg JM, Venkatachalam MA,

- Dong Z. Mitochondrial quality control in kidney injury and repair. *Nat Rev Nephrol* 2021; 17(5): 299–318.
- 3 Okamoto K, Shaw JM. Mitochondrial morphology and dynamics in yeast and multicellular eukaryotes. *Annu Rev Genet* 2005; 39: 503–536.
- 4 Suen DF, Norris KL, Youle RJ. Mitochondrial dynamics and apoptosis. *Genes Dev* 2008; 22(12): 1577–1590.
- 5 Scheffer DdL, Garcia AA, Lee L, Mochly-Rosen D, Ferreira JCB. Mitochondrial fusion, fission, and mitophagy in cardiac diseases: Challenges and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2022; 36(13–15): 844–863.
- 6 Waterham HR, Koster J, van Roermund CW, Mooyer PA, Wanders RJ, Leonard JV. A lethal defect of mitochondrial and peroxisomal fission. *N Engl J Med* 2007; 356(17): 1736–1741.
- 7 Yoon Y, Galloway CA, Jhun BS, Yu T. Mitochondrial dynamics in diabetes. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14(3): 439–457.
- 8 Delettre C, Lenaers G, Griffoin J-M, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P, Pelloquin L, Grosgeorge J, Turc-Carel C, Perret E, Astarie-Dequeker C, Lasquellec L, Arnaud B, Ducommun B, Kaplan J, Hamel CP. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet* 2000; 26(2): 207–210.
- 9 Zhan M, Brooks C, Liu F, Sun L, Dong Z. Mitochondrial dynamics: regulatory mechanisms and emerging role in renal pathophysiology. *Kidney Int* 2013; 83(4): 568–581.
- 10 Detmer SA, Chan DC. Functions and dysfunctions of mitochondrial dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(11): 870–879.
- 11 Chan DC. Mitochondrial fusion and fission in mammals. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2006; 22(1): 79–99.
- 12 Cipolat S, de Brito OM, Dal Zilio B, Scorrano L. OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(45): 15927–15932.
- 13 Mishra P, Chan DC. Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(10): 634–646.
- 14 Chen H, Chomyn A, Chan DC. Disruption of fusion results in mitochondrial heterogeneity and dysfunction. *J Biol Chem* 2005; 280(28): 26185–26192.
- 15 Piantadosi CA. Regulation of mitochondrial processes by protein S-nitrosylation. *Biochim et Biophys Acta* 2012; 1820(6): 712–721.
- 16 Delettre C, Griffoin JM, Kaplan J, Dollfus H, Lorenz B, Faivre L, Lenaers G, Belenguer P, Hamel CP. Mutation spectrum and splicing variants in the OPA1 gene. *Hum Genet* 2001; 109(6): 584–591.
- 17 Ishihara N, Fujita Y, Oka T, Mihara K. Regulation of mitochondrial morphology through proteolytic cleavage of OPA1. *EMBO J* 2006; 25(13): 2966–2977.
- 18 Anand R, Wai T, Baker MJ, Kladt N, Schauss AC, Rugarli E, Langer T. The i-AAA protease YME1L and OMA1 cleave OPA1 to balance mitochondrial fusion and fission. *J Cell Biol* 2014; 204(6): 919–929.
- 19 Ehses S, Raschke I, Mancuso G, Bernacchia A, Geimer S, Tondera D, Martinou JC, Westermann B, Rugarli EI, Langer T. Regulation of OPA1 processing and mitochondrial fusion by m-AAA protease isoenzymes and OMA1. *J Cell Biol* 2009; 187(7): 1023–1036.
- 20 Head B, Griparic L, Amiri M, Gandre-Babbe S, van der Blik AM. Inducible proteolytic inactivation of OPA1 mediated by the OMA1 protease in mammalian cells. *J Cell Biol* 2009; 187(7): 959–966.
- 21 McBride H, Soubannier V. Mitochondrial function: OMA1 and OPA1, the grandmasters of mitochondrial health. *Curr Biol* 2010; 20(6): R274–R276.
- 22 Quirós PM, Ramsay AJ, Sala D, Fernández-Vizarra E, Rodríguez F, Peinado JR, Fernández-García MS, Vega JA, Enríquez JA, Zorzano A, López-Otín C. Loss of mitochondrial protease OMA1 alters processing of the GTPase OPA1 and causes obesity and defective thermogenesis in mice. *EMBO J* 2012; 31(9): 2117–2133.
- 23 Gao S, Hu J. Mitochondrial fusion: The machineries in and out. *Trends Cell Biol* 2021; 31(1): 62–74.
- 24 Garcia I, Innis-Whitehouse W, Lopez A, Keniry M, Gilkerson R. Oxidative insults disrupt OPA1-mediated mitochondrial dynamics in cultured mammalian cells. *Redox Rep* 2018; 23(1): 160–167.
- 25 Chan DC. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease. *Annu Rev Pathol* 2020; 15(1): 235–259.
- 26 Duvezin-Caubet S, Jagasia R, Wagener J, Hofmann S, Trifunovic A, Hansson A, Chomyn A, Bauer MF, Attardi G, Larsson NG, Neupert W, Reichert AS. Proteolytic processing of OPA1 links mitochondrial dysfunction to alterations in mitochondrial morphology. *J Biol Chem* 2006; 281(49): 37972–37979.
- 27 Praefcke GJK, McMahon HT. The dynamin superfamily: universal membrane tubulation and fission molecules? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5(2): 133–147.
- 28 Otera H, Wang C, Cleland MM, Setoguchi K, Yokota S, Youle RJ, Mihara K. Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of Drp1 during mitochondrial fission in mammalian cells. *J Cell Biol* 2010; 191(6): 1141–1158.
- 29 Bui HT, Shaw JM. Dynamin assembly strategies and adaptor proteins in mitochondrial fission. *Curr Biol* 2013; 23(19): R891–R899.
- 30 Yoon Y, Krueger EW, Oswald BJ, McNiven MA. The

- mitochondrial protein hFis1 regulates mitochondrial fission in mammalian cells through an interaction with the dynamin-like protein DLP1. *Mol Cell Biol* 2023; 23(15): 5409–5420.
- 31 Losón OC, Song Z, Chen H, Chan DC, Newmeyer DD. Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission. *Mol Biol Cell* 2013; 24(5): 659–667.
 - 32 Otera H, Miyata N, Kuge O, Mihara K. Drp1-dependent mitochondrial fission via MiD49/51 is essential for apoptotic cristae remodeling. *J Cell Biol* 2016; 212(5): 531–544.
 - 33 Losón OC, Meng S, Ngo H, Liu R, Kaiser JT, Chan DC. Crystal structure and functional analysis of MiD49, a receptor for the mitochondrial fission protein Drp1. *Protein Sci* 2015; 24(3): 386–394.
 - 34 Ma J, Zhai Y, Chen M, Zhang K, Chen Q, Pang X, Sun F. New interfaces on MiD51 for Drp1 recruitment and regulation. *PLoS One* 2019; 14(1): e0211459.
 - 35 Liu R, Chan DC, Newmeyer DD. The mitochondrial fission receptor Mff selectively recruits oligomerized Drp1. *Mol Biol Cell* 2015; 26(24): 4466–4477.
 - 36 Zhang Z, Liu L, Wu S, Xing D. Drp1, Mff, Fis1, and MiD51 are coordinated to mediate mitochondrial fission during UV irradiation-induced apoptosis. *FASEB J* 2015; 30(1): 466–476.
 - 37 Palmer CS, Elgass KD, Parton RG, Osellame LD, Stojanovski D, Ryan MT. Adaptor proteins MiD49 and MiD51 can act independently of Mff and Fis1 in Drp1 recruitment and are specific for mitochondrial fission. *J Biol Chem* 2013; 288(38): 27584–27593.
 - 38 Koirala S, Guo Q, Kalia R, Bui HT, Eckert DM, Frost A, Shaw JM. Interchangeable adaptors regulate mitochondrial dynamin assembly for membrane scission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110(15): E1342–E1351.
 - 39 Osellame LD, Singh AP, Stroud DA, Palmer CS, Stojanovski D, Ramachandran R, Ryan MT. Cooperative and independent roles of the Drp1 adaptors Mff, MiD49 and MiD51 in mitochondrial fission. *J Cell Sci* 2016; 129(11): 2170–2181.
 - 40 Losón OC, Liu R, Rome ME, Meng S, Kaiser JT, Shan SO, Chan DC. The mitochondrial fission receptor MiD51 requires ADP as a cofactor. *Structure* 2014; 22(3): 367–377.
 - 41 Yu R, Liu T, Jin SB, Ning C, Lendahl U, Nistér M, Zhao J. MIEF1/2 function as adaptors to recruit Drp1 to mitochondria and regulate the association of Drp1 with Mff. *Sci Rep* 2017; 7(1): 880.
 - 42 Chang CR, Blackstone C. Cyclic AMP-dependent protein kinase phosphorylation of Drp1 regulates its GTPase activity and mitochondrial morphology. *J Biol Chem* 2007; 282(30): 21583–21587.
 - 43 Taguchi N, Ishihara N, Jofuku A, Oka T, Mihara K. Mitotic phosphorylation of dynamin-related GTPase Drp1 participates in mitochondrial fission. *J Biol Chem* 2007; 282(15): 11521–11529.
 - 44 Cribbs JT, Strack S. Reversible phosphorylation of Drp1 by cyclic AMP-dependent protein kinase and calcineurin regulates mitochondrial fission and cell death. *EMBO Rep* 2007; 8(10): 939–944.
 - 45 Han XJ, Lu YF, Li SA, Kaitsuka T, Sato Y, Tomizawa K, Nairn AC, Takei K, Matsui H, Matsushita M. CaM kinase I α -induced phosphorylation of Drp1 regulates mitochondrial morphology. *J Cell Biol* 2008; 182(3): 573–585.
 - 46 Cereghetti GM, Stangherlin A, de Brito OM, Chang CR, Blackstone C, Bernardi P, Scorrano L. Dephosphorylation by calcineurin regulates translocation of Drp1 to mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(41): 15803–15808.
 - 47 Cho SG, Du Q, Huang S, Dong Z. Drp1 dephosphorylation in ATP depletion-induced mitochondrial injury and tubular cell apoptosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299(1): F199–F206.
 - 48 Karbowski M, Neutznier A, Youle RJ. The mitochondrial E3 ubiquitin ligase MARCH5 is required for Drp1 dependent mitochondrial division. *J Cell Biol* 2007; 178(1): 71–84.
 - 49 Cho DH, Nakamura T, Fang J, Cieplak P, Godzik A, Gu Z, Lipton SA. S-Nitrosylation of Drp1 mediates β -amyloid-related mitochondrial fission and neuronal injury. *Science* 2009; 324(5923): 102–105.
 - 50 Kashatus JA, Nascimento A, Myers LJ, Sher A, Byrne FL, Hoehn KL, Counter CM, Kashatus DF. Erk2 phosphorylation of Drp1 promotes mitochondrial fission and MAPK-driven tumor growth. *Mol Cell* 2015; 57(3): 537–551.
 - 51 Searinghe Madhavika N, Wieder Shira Y, Renault Thibaud T, Elkholi R, Asciolla James J, Yao Jonathon L, Jabado O, Hoehn K, Kageyama Y, Sesaki H, Chipuk Jerry E. Mitochondrial division is requisite to RAS-induced transformation and targeted by oncogenic MAPK pathway inhibitors. *Mol Cell* 2015; 57(3): 521–536.
 - 52 Wang W, Wang Y, Long J, Wang J, Haudek Sandra B, Overbeek P, Chang Benny HJ, Schumacker Paul T, Danesh Farhad R. Mitochondrial fission triggered by hyperglycemia is mediated by ROCK1 activation in podocytes and endothelial cells. *Cell Metab* 2012; 15(2): 186–200.
 - 53 Tsuyoshi H, Wong VKW, Han Y, Orisaka M, Yoshida Y, Tsang BK. Saikosaponin-d, a calcium mobilizing agent, sensitizes chemoresistant ovarian cancer cells to cisplatin-induced apoptosis by facilitating mitochondrial fission and

- G2/M arrest. *Oncotarget* 2017; 8(59): 99825–99840.
- 54 Das R, Kamal IM, Das S, Chakrabarti S, Chakrabarti O. MITOL-mediated DRP1 ubiquitylation and degradation promotes mitochondrial hyperfusion in a CMT2A-linked MFN2 mutant. *J Cell Sci* 2022; 135(2): jcs257808.
 - 55 Kowluru RA, Mohammad G. Mitochondrial fragmentation in a high homocysteine environment in diabetic retinopathy. *Antioxidants (Basel)* 2022; 11(2): 365.
 - 56 Rizza S, Filomeni G. Denitrosylate and live longer: how ADH5/GSNOR links mitophagy to aging. *Autophagy* 2018; 14(7): 1285–1287.
 - 57 Sun D, Wang J, Toan S, Muid D, Li R, Chang X, Zhou H. Molecular mechanisms of coronary microvascular endothelial dysfunction in diabetes mellitus: focus on mitochondrial quality surveillance. *Angiogenesis* 2022; 25(3): 307–329.
 - 58 Wu H, Li G, Chen W, Luo W, Yang Z, You Z, Zou Y. Drp1 knockdown represses apoptosis of rat retinal endothelial cells by inhibiting mitophagy. *Acta Histochem* 2022; 124(1): 151837.
 - 59 Huang M, Wei R, Wang Y, Su T, Li P, Chen X. The uremic toxin hippurate promotes endothelial dysfunction via the activation of Drp1-mediated mitochondrial fission. *Redox Biol* 2018; 16: 303–313.
 - 60 Lodge T, Liao C, Fratter C, Carver J, Diot A, Dombi E, Sergeant K, Ashley N, Olpin S, Hadjichristou N, Morten K, Poulton J. Defects in mitochondrial DNA (mtDNA) replication cause mtDNA depletion, increased mtDNA turnover and increased mitophagy. *Neuromuscular Disorders* 2017; 27: S23–S24.
 - 61 Sabouny R, Shutt TE. The role of mitochondrial dynamics in mtDNA maintenance. *J Cell Sci* 2021; 134(24): jcs258944.
 - 62 El-Hattab AW, Craigen WJ, Scaglia F. Mitochondrial DNA maintenance defects. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2017; 1863(6): 1539–1555.
 - 63 Chen H, Vermulst M, Wang YE, Chomyn A, Prolla TA, McCaffery JM, Chan DC. Mitochondrial fusion is required for mtDNA stability in skeletal muscle and tolerance of mtDNA mutations. *Cell* 2010; 141(2): 280–289.
 - 64 Baumann K. Fusing for stability. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11(6): 391–391.
 - 65 Lee H, Smith SB, Yoon Y. The short variant of the mitochondrial dynamin OPA1 maintains mitochondrial energetics and cristae structure. *J Biol Chem* 2017; 292(17): 7115–7130.
 - 66 Ishihara T, Ban-Ishihara R, Maeda M, Matsunaga Y, Ichimura A, Kyogoku S, Aoki H, Katada S, Nakada K, Nomura M, Mizushima N, Mihara K, Ishihara N. Dynamics of mitochondrial DNA nucleoids regulated by mitochondrial fission is essential for maintenance of homogeneously active mitochondria during neonatal heart development. *Mol Cell Biol* 2023; 35(1): 211–223.
 - 67 Mishra P, Carelli V, Manfredi G, Chan DC. Proteolytic cleavage of Opa1 stimulates mitochondrial inner membrane fusion and couples fusion to oxidative phosphorylation. *Cell Metab* 2014; 19(4): 630–641.
 - 68 Zanna C, Ghelli A, Porcelli AM, Karbowski M, Youle RJ, Schimpf S, Wissinger B, Pinti M, Cossarizza A, Vidoni S, Valentino ML, Rugolo M, Carelli V. OPA1 mutations associated with dominant optic atrophy impair oxidative phosphorylation and mitochondrial fusion. *Brain* 2008; 131(2): 352–367.
 - 69 Quintana-Cabrera R, Manjarrés-Raza I, Vicente-Gutiérrez C, Corrado M, Bolaños JP, Scorrano L. Opa1 relies on cristae preservation and ATP synthase to curtail reactive oxygen species accumulation in mitochondria. *Redox Biol* 2021; 41: 101944.
 - 70 Arnoult D. Mitochondrial release of AIF and EndoG requires caspase activation downstream of Bax/Bak-mediated permeabilization. *EMBO J* 2003; 22(17): 4385–4399.
 - 71 Kale J, Osterlund EJ, Andrews DW. BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death. *Cell Death Differ* 2017; 25(1): 65–80.
 - 72 Foley JF. Mitochondria, apoptosis, and the inflammasome. *Sci Signal* 2012; 5(219): ec106.
 - 73 Goldmacher VS. vMIA, a viral inhibitor of apoptosis targeting mitochondria. *Biochimie* 2002; 84(2–3): 177–185.
 - 74 Du M, Yu S, Su W, Zhao M, Yang F, Liu Y, Mai Z, Wang Y, Wang X, Chen T. Mitofusin 2 but not mitofusin 1 mediates Bcl-XL-induced mitochondrial aggregation. *J Cell Sci* 2020; 133(20): jcs245001.
 - 75 Maekawa H, Inoue T, Ouchi H, Jao TM, Inoue R, Nishi H, Fujii R, Ishidate F, Tanaka T, Tanaka Y, Hirokawa N, Nangaku M, Inagi R. Mitochondrial damage causes inflammation via cGAS-STING signaling in acute kidney injury. *Cell Rep* 2019; 29(5): 1261–1273.e6.
 - 76 El-Hattab AW, Suleiman J, Almannai M, Scaglia F. Mitochondrial dynamics: Biological roles, molecular machinery, and related diseases. *Mol Genet Metab* 2018; 125(4): 315–321.
 - 77 Brooks C, Wei Q, Cho SG, Dong Z. Regulation of mitochondrial dynamics in acute kidney injury in cell culture and rodent models. *J Clin Invest* 2009; 119(5): 1275–1285.
 - 78 Szabo A, Sumegi K, Fekete K, Hocsak E, Debreceni B, Setalo G, Kovacs K, Deres L, Kengyel A, Kovacs D, Mandl J, Nyitrai M, Febbraio MA, Gallyas F, Sumegi B. Activation of mitochondrial fusion provides a new treat-

- ment for mitochondria-related diseases. *Biochem Pharmacol* 2018; 150: 86–96.
- 79 Agarwal A, Dong Z, Harris R, Murray P, Parikh SM, Rosner MH, Kellum JA, Ronco C. Cellular and molecular mechanisms of AKI. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27(5): 1288–1299.
- 80 Liu JX, Yang C, Zhang WH, Su HY, Liu ZJ, Pan Q, Liu HF. Disturbance of mitochondrial dynamics and mitophagy in sepsis-induced acute kidney injury. *Life Sci* 2019; 235: 116828.
- 81 Perry HM, Huang L, Wilson RJ, Bajwa A, Sesaki H, Yan Z, Rosin DL, Kashatus DF, Okusa MD. Dynamin-related protein 1 deficiency promotes recovery from AKI. *J Am Soc Nephrol* 2018; 29(1): 194–206.
- 82 Morigi M, Perico L, Rota C, Longaretti L, Conti S, Rottoli D, Novelli R, Remuzzi G, Benigni A. Sirtuin 3-dependent mitochondrial dynamic improvements protect against acute kidney injury. *J Clin Invest* 2015; 125(2): 715–726.
- 83 Shen L, Zhang Q, Tu S, Qin W. SIRT3 mediates mitofusin 2 ubiquitination and degradation to suppress ischemia reperfusion-induced acute kidney injury. *Exp Cell Res* 2021; 408(2): 112861.
- 84 Mao RW, He SP, Lan JG, Zhu WZ. Honokiol ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury via inhibition of mitochondrial fission. *Br J Pharmacol* 2022; 179(14): 3886–3904.
- 85 Qin N, Cai T, Ke Q, Yuan Q, Luo J, Mao X, Jiang L, Cao H, Wen P, Zen K, Zhou Y, Yang J. UCP2-dependent improvement of mitochondrial dynamics protects against acute kidney injury. *J Pathol* 2018; 247(3): 392–405.
- 86 Xiao X, Hu Y, Quirós PM, Wei Q, López-Otín C, Dong Z. OMA1 mediates OPA1 proteolysis and mitochondrial fragmentation in experimental models of ischemic kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014; 306(11): F1318–F1326.
- 87 Gall JM, Wang Z, Bonegio RG, Havasi A, Liesa M, Vemula P, Borkan SC. Conditional knockout of proximal tubule mitofusin 2 accelerates recovery and improves survival after renal ischemia. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26(5): 1092–1102.
- 88 Funk JA, Schnellmann RG. Persistent disruption of mitochondrial homeostasis after acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 302(7): F853–F864.
- 89 Emma F, Montini G, Parikh SM, Salviati L. Mitochondrial dysfunction in inherited renal disease and acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol* 2016; 12(5): 267–280.
- 90 Perico L, Morigi M, Benigni A. Mitochondrial Sirtuin 3 and renal diseases. *Nephron* 2016; 134(1): 14–19.
- 91 Ighodaro OM. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother* 2018; 108: 656–662.
- 92 Qi H, Casalena G, Shi S, Yu L, Ebefors K, Sun Y, Zhang W, D’Agati V, Schlondorff D, Haraldsson B, Böttinger E, Daehn I. Glomerular endothelial mitochondrial dysfunction is essential and characteristic of diabetic kidney disease susceptibility. *Diabetes* 2017; 66(3): 763–778.
- 93 Qi W, Keenan HA, Li Q, Ishikado A, Kannt A, Sadowski T, Yorek MA, Wu IH, Lockhart S, Coppey LJ, Pfenninger A, Liew CW, Qiang G, Burkart AM, Hastings S, Pober D, Cahill C, Niewczas MA, Israelsen WJ, Tinsley L, Stillman IE, Amenta PS, Feener EP, Vander Heiden MG, Stanton RC, King GL. Pyruvate kinase M2 activation may protect against the progression of diabetic glomerular pathology and mitochondrial dysfunction. *Nat Med* 2017; 23(6): 753–762.
- 94 Sivitz WI, Yorek MA. Mitochondrial dysfunction in diabetes: From molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2010; 12(4): 537–577.
- 95 Sun L, Xie P, Wada J, Kashihara N, Liu FY, Zhao Y, Kumar D, Chugh SS, Danesh FR, Kanwar YS. Rap1b GTPase ameliorates glucose-induced mitochondrial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19(12): 2293–2301.
- 96 Diaz-Morales N, Rovira-Llopis S, Bañuls C, Escribano-Lopez I, de Marañon AM, Lopez-Domenech S, Orden S, Roldan-Torres I, Alvarez A, Veses S, Jover A, Rocha M, Hernandez-Mijares A, Victor VM. Are mitochondrial fusion and fission impaired in leukocytes of type 2 diabetic patients? *Antioxid Redox Signal* 2016; 25(2): 108–115.
- 97 Ayanga BA, Badal SS, Wang Y, Galvan DL, Chang BH, Schumacker PT, Danesh FR. Dynamin-related protein 1 deficiency improves mitochondrial fitness and protects against progression of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27(9): 2733–2747.
- 98 Fan X, Li X, Liu H, Xu F, Ji X, Chen Y, Li C. A ROCK1 inhibitor fasudil alleviates cardiomyocyte apoptosis in diabetic cardiomyopathy by inhibiting mitochondrial fission in a type 2 diabetes mouse model. *Front Pharmacol* 2022; 13: 892643.
- 99 Agil A, Chayah M, Visiedo L, Navarro-Alarcon M, Rodríguez Ferrer JM, Tassi M, Reiter RJ, Fernández-Vázquez G. Melatonin improves mitochondrial dynamics and function in the kidney of Zucker diabetic fatty rats. *J Clin Med* 2020; 9(9): 2916.
- 100 Liu X, Wang W, Song G, Wei X, Zeng Y, Han P, Wang D, Shao M, Wu J, Sun H, Xiong G, Li S. Astragaloside IV ameliorates diabetic nephropathy by modulating the mitochondrial quality control network. *PLoS One* 2017; 12(8): e0182558.
- 101 Tang WX, Wu WH, Zeng XX, Bo H, Huang SM. Early protective effect of mitofusion 2 overexpression in STZ-

- induced diabetic rat kidney. *Endocrine* 2011; 41(2): 236–247.
- 102 Humphreys BD. Mechanisms of renal fibrosis. *Annu Rev Physiol* 2018; 80(1): 309–326.
- 103 Kramann R, DiRocco DP, Maarouf OH, Humphreys BD. Matrix-producing cells in chronic kidney disease: Origin, regulation, and activation. *Curr Pathobiol Rep* 2013; 1(4): 301–311.
- 104 Quadri MM, Fatima SS, Che RC, Zhang AH. Mitochondria and renal fibrosis. *Adv Exp Med Biol* 2019; 1165: 501–524.
- 105 Szeto HH, Liu S, Soong Y, Alam N, Prusky GT, Seshan SV. Protection of mitochondria prevents high-fat diet-induced glomerulopathy and proximal tubular injury. *Kidney Int* 2016; 90(5): 997–1011.
- 106 Wang Y, Lu M, Xiong L, Fan J, Zhou Y, Li H, Peng X, Zhong Z, Wang Y, Huang F, Chen W, Yu X, Mao H. Drp1-mediated mitochondrial fission promotes renal fibroblast activation and fibrogenesis. *Cell Death Dis* 2020; 11(1): 29.
- 107 Su CT, See DHW, Huang YJ, Jao TM, Liu SY, Chou CY, Lai CF, Lin WC, Wang CY, Huang JW, Hung KY. LTBP4 protects against renal fibrosis via mitochondrial and vascular impacts. *Circ Res* 2023; 133(1): 71–85.
- 108 Wang Y, Lu M, Xiong L, Fan J, Zhou Y, Li H, Peng X, Zhong Z, Wang Y, Huang F, Chen W, Yu X, Mao H. Drp1-mediated mitochondrial fission promotes renal fibroblast activation and fibrogenesis. *Cell Death Dis* 2020; 11(1): 29.
- 109 Wang M, Wang L, Zhou Y, Feng X, Ye C, Wang C. Shen Shuai II Recipe attenuates renal fibrosis in chronic kidney disease by improving hypoxia-induced the imbalance of mitochondrial dynamics via PGC-1 α activation. *Phytomedicine* 2022; 98: 153947.
- 110 Sun L, Yuan Q, Xu T, Yao L, Feng J, Ma J, Wang L, Lu C, Wang D. Pioglitazone improves mitochondrial function in the remnant kidney and protects against renal fibrosis in 5/6 nephrectomized rats. *Front Pharmacol* 2017; 8: 545.
- 111 Mishra P, Chan DC. Metabolic regulation of mitochondrial dynamics. *J Cell Biol* 2016; 212(4): 379–387.