

中医药靶向调节线粒体动力学及相关蛋白 SUMO 化修饰防治脑缺血/再灌注损伤的研究进展

陈祥宇¹, 阳晶晶¹, 梅志刚^{1*}, 张文丽^{2*}

1. 湖南中医药大学 中西医结合心脑血管疾病防治湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

2. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

摘要: 线粒体稳态失衡在脑缺血/再灌注损伤 (cerebral ischemia/reperfusion injury, CI/RI) 病理过程中扮演重要角色。线粒体分裂/融合的动态调节 (线粒体动力学) 作为线粒体质量控制 (mitochondrial quality control, MQC) 的关键环节, 在 CI/RI 中维持线粒体稳态发挥重要作用。小泛素相关修饰物 (small ubiquitin-related modifier, SUMO) 修饰是一类存在于细胞内动态可逆的蛋白质翻译后修饰形式, 通过对底物蛋白进行多步酶促反应以完成对靶蛋白的 SUMO 修饰和去 SUMO 修饰过程, 进而影响底物蛋白的亚细胞定位、蛋白互作和稳定性, 其普遍参与了蛋白转运、信号传导、DNA 修复、炎症反应及氧化应激等病理生理过程。线粒体动力学及相关蛋白通过 SUMO 化修饰调控线粒体融合和分裂, 进而调节线粒体稳态, 在 CI/RI 进展与转归中发挥着关键作用。中药在防治缺血性脑病方面具有明显优势, 综述了线粒体分裂/融合过程中相关蛋白的 SUMO 化修饰的调节机制, 以及靶向调节线粒体动力学及相关蛋白 SUMO 化修饰防治 CI/RI 的中医药研究进展, 以为缺血性脑病如卒中的康复治疗提供新的治疗策略与潜在药用靶点。

关键词: 中药; 线粒体动力学; 线粒体分裂; 线粒体融合; SUMO 化修饰; 脑缺血/再灌注损伤

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)16-5205-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.16.030

Research progress on traditional Chinese medicine in treatment of cerebral ischemia/reperfusion injury by targeting mitochondrial dynamics and related proteins SUMOylation

CHEN Xiang-yu¹, YANG Jing-jing¹, MEI Zhi-gang¹, ZHANG Wen-li²

1. Key Laboratory of Hunan Province for Integrated Traditional Chinese and Western Medicine on Prevention and Treatment of Cardio-Cerebral Diseases, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Imbalance in mitochondrial homeostasis plays an important role in the pathological process of cerebral ischemia/reperfusion injury (CI/RI). Dynamic regulation of mitochondrial fission/fusion (mitochondrial dynamics), as a key part of mitochondrial quality control (MQC), plays a crucial role in maintaining mitochondrial homeostasis in CI/RI. Small ubiquitin-related modifier (SUMO) is a kind of dynamic and reversible post-translational modification of proteins in cells. SUMOylation and deSUMOylation of target proteins are completed through multi-step enzymatic reactions of substrate proteins, thus affecting subcellular localization, protein interaction and stability of substrate proteins. It is generally involved in pathophysiological processes such as protein transport, signal transduction, DNA repair, inflammatory response and oxidative stress. Mitochondrial dynamics and related proteins regulate mitochondrial fission and fusion through SUMOylation to regulate mitochondrial homeostasis and effect the progression and prognosis of CI/RI. Traditional Chinese medicine has obvious advantages in preventing and treating ischemic encephalopathy. In this paper, we reviewed the regulatory mechanism of SUMOylation of proteins involved

收稿日期: 2022-02-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82174167); 湖南省自然科学基金面上项目 (2021JJ30499); 湖南省国内一流培育学科中西医结合开放基金项目 (2020ZXYJH63); 湖南中医药大学研究生科研创新项目 (2021CX63)

作者简介: 陈祥宇 (1997—), 男, 硕士研究生, 主要从事中西医结合防治脑病作用机制研究。E-mail: cxy173557124@163.com

***通信作者:** 梅志刚 (1977—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事中西医结合防治脑病作用机制研究。E-mail: meizhigang@hnuucm.edu.cn

张文丽 (1978—), 女, 副教授, 博士, 主要从事药用植物学研究。E-mail: wendyibcas@163.com

in mitochondrial fission/fusion, as well as the research progress of traditional Chinese medicine targeted mitochondrial dynamics and SUMOylation of related proteins in treating CI/RI, in order to provide new therapeutic strategies and potential therapeutic targets for the treatment and rehabilitation for ischemic encephalopathy especially ischemic stroke.

Key words: traditional Chinese medicine; mitochondrial dynamics; mitochondrial fission; mitochondrial fusion; SUMOylation; cerebral ischemia/reperfusion injury

缺血性脑卒中约占我国全部卒中患者的 80%^[1], 具有高发病率、高死亡率和高致残率的特点, 给患者、家庭和社会带来极大的痛苦和沉重的经济负担^[2]。目前, 临床上缺血性脑卒中主要采用机械取栓或药物溶栓治疗, 可有效恢复缺血区域的供血^[3]。然而, 血流再通在挽救濒死的神经元同时却会带来脑缺血/再灌注损伤 (cerebral ischemia/reperfusion injury, CI/RI)^[4], 进一步加重病情。CI/RI 的病理过程十分复杂, 主要涉及炎症反应、兴奋性氨基酸毒性、钙超载、能量代谢障碍、氧化应激等多种机制, 这些病理反应共同导致线粒体结构与功能改变^[5], 使多种蛋白发生翻译后修饰, 如磷酸化、乙酰化、甲基化、泛素化和小泛素相关修饰物 (small ubiquitin-related modifier, SUMO) 化等, 通过调节底物蛋白的活性、亚细胞器定位、稳定性或蛋白互作, 从而影响线粒体功能发挥。线粒体分裂与融合 (动力学) 动态调节, 是线粒体质量控制 (mitochondrial quality control, MQC) 的重要环节之一, 对维持线粒体的正常形态结构及脑细胞的功能具有重要作用。CI/RI 过程中, 线粒体动力学及多种相关蛋白 SUMO 化修饰可逆过程常发生失衡, 易诱发继发损伤, 故靶向线粒体动力学及相关蛋白 SUMO 化修饰调控有望成为防治 CI/RI 的新兴途径。中医药在缺血性脑卒中的康复治疗历史悠久, 疗效显著, 然而其潜在作用机制目前尚不清晰。本文综述了 CI/RI 过程中线粒体动力学及相关蛋白 SUMO 化修饰的相关作用机制以及中医药靶向干预调节的研究进展, 以期为临床防治缺血性脑病提供新策略和理论参考。

1 线粒体稳态与 CI/RI

线粒体被称为细胞的动力室, 不仅能够产生三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 为细胞提供能量, 同时在控制活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的生成、维持 Ca^{2+} 稳态、调节渗透压、转导细胞信号等方面均发挥重要作用。正常生理情况下, 线粒体形态、结构、数量、体积、质量及功能维持动态平衡状态, 称为线粒体稳态, 是细胞与组织赖以生存的重要保障。神经细胞的能量供应主要来源

于葡萄糖的有氧代谢满足其旺盛的能量代谢, 但其自身并不储存糖原, 这种能量需求特性使其对缺血、缺氧特别敏感。缺血性脑卒中发作后, 脑组织能量耗竭为其首发环节, 由于脑部血流迅速下降导致神经元葡萄糖和氧的供给不足, 进而引起线粒体结构异常, 氧化磷酸化发生障碍, 无氧呼吸产生的过量乳酸进一步破坏线粒体内外的电化学梯度, 导致线粒体发生肿胀和钙超载^[6]。当溶栓或介入治疗后, 恢复供氧带来的氧化应激反应在极短时间内即可损伤线粒体, 并对线粒体产生长时间的持续性氧化应激破坏, 进而导致线粒体持续损伤破坏^[7]。过氧化物的堆积、钙超载、兴奋性氨基酸毒性损伤等多种因素作用造成线粒体氧化磷酸化功能障碍, ROS 产生增多, 清除能力下降, 导致 ROS 大规模聚集, 引发进一步氧化应激反应使线粒体结构发生破坏, 造成细胞线粒体稳态失衡^[8-9]。因此稳态失衡的线粒体是进一步扩大 CI/RI 的关键因素, 恢复线粒体稳态很可能是缓解 CI/RI、挽救神经细胞、恢复神经功能、促进缺血性脑卒中康复的重要治疗靶标。

2 CI/RI 对 MQC 体系的影响

研究表明, MQC 主要涉及线粒体生物合成、线粒体分裂/融合 (动力学)、线粒体自噬^[10-11]以及线粒体衍生囊泡^[12]等过程。生理状态下, 线粒体需要通过质量控制及时补充及合成新的线粒体, 从而维持线粒体形态、数量与质量的相对稳定, 并及时清除衰老和损伤破坏的线粒体, 调控线粒体更新, 维持细胞内稳态。在应激、缺血缺氧环境等病理条件下, MQC 发生严重失调, 引起线粒体的结构损伤和功能障碍, 表现为线粒体肿胀和嵴消失、线粒体膜电位的下降、线粒体通透性转化孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) 开放、ATP 合成障碍、ROS 自由基过度产生、促凋亡因子释放增加等, 最终导致细胞凋亡和组织损伤^[13]。

过氧化物酶体增生激活受体 γ 辅激活因子-1 α (peroxisome-proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α)、核因子 E2 相关因子 1/2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 1/2, Nrf1/2)、线粒体转录因

子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM) 调控线粒体增殖和线粒体生物合成以实现线粒体更新。线粒体动力相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, Drp1)、线粒体分裂蛋白 1 (fission protein 1, Fis1)、线粒体分裂因子 (mitochondrial fission factor, Mff) 调控线粒体分裂, 线粒体融合蛋白 1/2 (mitofusin 1/2, Mfn1/2)、视神经萎缩蛋白 1 (optic atrophy protein 1, OPA1) 介导线粒体的融合, 共同维持线粒体形态、数量与质量的相对稳定。PTEN 诱导的激酶 1 (PTEN-induced putative kinase 1, PINK1) / Parkin、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)/腺病毒 E1B19 蛋白相互作用蛋白 3 样 (adenovirus E1B19 interacting protein 3-like, Bnip3L) 和含 FUN14 域 1 (FUN14 domain containing 1, FUNDC1) 等蛋白调控线粒体自噬以选择性清除受损或功能障碍线粒体, 进而调控线粒体功能并维持细胞存活。线粒体衍生囊泡途径是将受损部分或氧化蛋白运送到溶酶体或过氧化物酶体进行降解, 维持线粒体稳态^[14]。MQC 的各个环节密不可分, 由 Drp1 介导的线粒体分裂可通过 PINK1/Parkin 信号通路或线粒体自噬受体 Bnip3L、FUNDC1 等调控线粒体自噬, 并通过自噬小体吞噬去除细胞中受损的线粒体^[15-16]。PGC-1 α 是调控线粒体生物合成的转录共激活因子, 能调节 Drp1 蛋白的表达及其磷酸化, 增加线粒体数量^[17-18]。线粒体衍生囊泡是独立于线粒体自噬和分裂机制但依赖于 PINK1/Parkin 功能的另一 MQC 调控途径^[19]。

维护线粒体动力学平衡是实现 MQC 和恢复线粒体稳态的基础^[11]。线粒体为动态的细胞器, 正常情况下, 通过分裂和融合之间的动态平衡维持线粒体形态与结构, 保证线粒体正常生理功能的发挥。线粒体分裂是指线粒体分成 2 个较小线粒体的过程, 可以清除大脑中功能失调的线粒体^[5]。Drp1 是调控线粒体分裂的关键蛋白^[20], Drp1 在细胞质中分散存在, 当线粒体分裂被激活后, Drp1 从细胞质转位到线粒体外膜断裂位点表面, 与驻留在线粒体外膜收缩部位的 Fis1、Mff 和线粒体动力学蛋白 49/51 (mitochondrial dynamics proteins 49/51, MID49/51) 结合, 在它们协同作用或独立作用下形成分裂位点, 并从胞质中募集 Drp1, 在分裂位点上不断地围绕线粒体聚集组装成螺旋寡聚物^[21], 水解三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP), 实现线粒体内、外膜断裂^[22]; 分裂完成后, Drp1 再返回到细胞质, 在细胞质与线粒体外膜之间循环。线粒体融合是指 2

个不同的线粒体经过内、外膜融合, 形成 1 个较大的线粒体, 并进行线粒体内容物交换的过程, 可为已受损的线粒体提供呼吸链和 DNA。位于线粒体外膜的 Mfn1/2 和位于线粒体内膜的 OPA1 是介导线粒体融合的关键蛋白^[20]。Mfn1 和 Mfn2 可通过相互作用发生顺式二聚化, 形成 Mfn1-Mfn2 异源二聚体或同源二聚体, 进而促使相邻线粒体外膜产生反式栓连^[23-24]。Mfn 二聚体的 GTP 酶结构域可水解 GTP, 引起膜构象水解, 进而引起 2 个线粒体外膜的融合。OPA1 是一个动态的 GTP 酶, 促使线粒体内膜的融合并维持线粒体嵴的形态^[25-26]。

线粒体动力学在 CI/RI 中的关键作用已被广泛报道。在体实验中, 大鼠缺血 2 h, 再灌注 24 h 后, 脑组织中 Drp1 和细胞色素 C 蛋白和基因表达水平明显增加; Drp1 抑制剂 mdivi-1 能明显降低 Drp1 和细胞色素 C 蛋白和基因表达, 有效地抑制线粒体分裂, 阻断细胞发生凋亡, 减轻 CI/RI 所致的脑损伤^[27]。右美托咪定可减轻小鼠缺血 1 h 再灌注 24 h 后的神经功能缺损, 降低脑梗死体积, 减少 p-Drp1 蛋白表达, 增加 Mfn2 蛋白表达, 并激活腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK) 信号通路促使线粒体融合, 抑制线粒体分裂, 改善线粒体形态和功能, 发挥对 CI/RI 诱导的脑组织保护作用^[28]。给予 90 min 短暂大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 后再灌注 3 h, 缺血发作前 2 周的运动增加了线粒体融合, 改善了线粒体功能, 减轻了脑水肿^[29]。体外实验中, 小鼠海马神经元在氧糖剥夺 (oxygen-glucose deprivation, OGD) 阶段, 线粒体会发生分裂, 进而激活线粒体自噬清除受损的线粒体, 而未激活凋亡信号; OGD/R 后, 大量的线粒体发生分裂, 线粒体的过度分裂激活了半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (cystein-aspartate protease, Caspase) -3/7 介导的特异性凋亡, 导致神经元死亡^[30]。海马神经元 OGD/R 会上调 Drp1、Fis1 的表达, 促进线粒体分裂, 加重神经元线粒体损害, 进一步造成神经元的损伤; 异丙酚能通过调节 Drp1-ser367 和 Fis1 的结合或表达来抑制线粒体裂变和线粒体促凋亡因子的表达逆转 OGD/R 造成的神经元损伤^[31]。

综上所述, 在 CI/RI 中, 线粒体分裂增加促进细胞凋亡^[32-33]。CI/RI 时, 尽管线粒体分裂是一种对细胞应激的适应性反应, 利用线粒体自噬促进损伤线粒体的分离和清除, 但过度分裂也伴随着线粒

体外膜通透性增加导致的细胞色素 C 的大量释放。过多的线粒体分裂导致的能量紊乱和 mtDNA 损伤与增加的脑损伤有关。线粒体融合可以促进代谢物、蛋白质和 mtDNA 的分布,抑制线粒体裂变,稳定线粒体电位,加速线粒体生物能,并最终减轻 I/R 诱导的损伤^[34]。因此,抑制线粒体分裂,促进线粒体融合,对线粒体动力学发挥调控作用的药物或基因干预可能为实现 MQC,减轻 CI/RI 提供新的策略。

3 线粒体动力学相关蛋白 SUMO 化与 CI/RI

SUMO 化是一种蛋白翻译后修饰方式,SUMO 蛋白首先转录为没有活性、带有 C 端的前体蛋白,C-末端短肽在 SUMO 特异性蛋白酶(sentrin specific proteases, SENPs)的作用下水解,转化为成熟的功能蛋白,成熟形式的 SUMO 在激活酶(E1)和 ATP 参与下完成活化,随后被转移到偶联酶(E2)上 Ubc9(Ubc9 是唯一的偶联酶)的活化或 Ubc9 与底物蛋白的距离被拉近,催化 SUMO 更高效地从 Ubc9 上转移并共价结合到底物蛋白的赖氨酸残基上,对底物蛋白进行类似于泛素化的可逆多步酶联反应完成 SUMO 化过程^[35-37],从而影响底物蛋白的亚细胞定位、蛋白互作和稳定性等发挥对细胞生理的调节作用。在 SENPs 介导下,将 SUMO 从底物蛋白中解离的过程称为去 SUMO 化^[38],解离后的 SUMO 蛋白能够再次与靶蛋白结合。哺乳动物中有 SUMO1~5^[39],SUMO1~3 在脑组织中广泛表达。SUMO2 和 SUMO3 具有 96%的同源性,常合称为 SUMO2/3^[40]。SENPs 家族有 SENP1~3、SENP5~8,SENP1 和 SENP2 可将 SUMO1、SUMO2/3 从靶蛋白上解离,SENP1 对 SUMO1 的解离效率更高,SENP3 和 SENP5~7 对 SUMO2/3 的选择性更高^[41]。SUMO 化与去 SUMO 化间的动态平衡对维持底物蛋白正常生理功能至关重要,平衡失调将会使底物蛋白功能出现异常,从而可能导致疾病的发生。

研究发现,大鼠脑缺血 1 h,再灌注 3 h 后,神经元内 SUMO2/3 的相对表达量增加并出现核内移^[42];脑缺血 2 h,再灌注 24、48 h 后,皮质区中 SUMO2/3 的表达水平同样上调^[43];小鼠 I/R 后的皮层神经元中 SENP1 水平显著增加,通过减少 SUMO1 的偶联,减少 Caspase-3 活化而减少细胞凋亡^[44]。提高 SUMO2/3 表达水平,并促进其在神经元核内移,可减轻 I/R 诱导的神经功能缺损、脑梗死体积及纹状体损伤程度^[42]。选择治疗性脑低温能通过下调 I/R 损伤后

缺血半暗区 SENP3 的表达,增加 Ubc9 的表达,从而增加 SUMO2/3 的修饰,发挥神经保护作用^[45]。

在线粒体动力学调控过程中,Drp1 为促进线粒体分裂的主要成分,是调控线粒体稳态的关键蛋白,其活性受到 SUMO1 和 SUMO2/3 调节。研究发现,Drp1 的 SUMO1 修饰及过表达 SUMO1 导致稳定的 Drp1 偶联,保护 Drp1 不被降解,促进 Drp1 的线粒体定位,并最终导致线粒体形态向碎片表型转变^[46-47]。tMCAO/R 后,SENP1 敲除导致 Drp1 的 SUMO1 修饰水平明显增多,Drp1 蛋白稳定性增加,促进线粒体形态改变,导致线粒体途径凋亡增加^[47]。SENP2 和 SENP5 介导 Drp1 的去 SUMO1 化,降低 Drp1-SUMO1 水平,进而降低 Drp1 的稳定性,挽救 SUMO1 诱导的线粒体碎片,减少线粒体碎裂,影响线粒体形态,维持线粒体结构和功能^[48];敲除或靶向破坏 SENP2 能促进 Drp1 的 SUMO1 化,增强线粒体碎片化,诱导神经变性^[49]。Bcl-xL 是线粒体中的 1 个跨膜分子,属于抗凋亡蛋白,能够阻止由线粒体内容物如细胞色素 C 的释放而激活的 Caspase 介导的程序性细胞死亡^[50]。Drp1 发生 SUMO 化的可变区序列是 Drp1 和 Bcl-xL 之间的接口,OGD/R 过程中,细胞内 SENP3 水平随着复氧时间的延长而恢复,SENP3 发挥去 SUMO2/3 化作用,Drp1-SUMO2/3 偶联减少,MFF 招募非 SUMO 化的 Drp1 到线粒体外膜^[51],一方面,促进 Drp1 的线粒体定位,导致线粒体碎裂,细胞色素 C 释放,引发细胞凋亡;另一方面,启动 Drp1 与线粒体上 Bcl-xL 的 BH2 域的 1 个区域相互作用,诱发乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)释放,促进细胞死亡^[52]。SENP3 敲除极大地增加了 Drp1-SUMO2/3 偶联,Drp1-SUMO2/3 在空间上阻碍 Bcl-xL 与 Drp1 相互作用,进而减少了 Drp1 的线粒体定位,降低了 Caspase-3 的激活和 LDH 的释放;过表达 SENP3 则促进了 Drp1 的线粒体定位,增加了细胞色素 C 的释放^[53]。Fis1 在 K149 位点与 SUMO2/3 结合发生 SUMO 化,SENP3 蛋白的表达导致 Fis1 的 SUMO-2/3 化修饰下降,非 SUMO 化的 Fis1 与 Drp1 结合促进线粒体定位,导致线粒体分裂,进而诱导线粒体自噬^[54-55]。位于线粒体外膜的 Mfn1 和 Mfn2 作为膜链形成同源二聚体(Mfn1-Mfn1 和 Mfn2-Mfn2)或反式异质二聚体(Mfn1-Mfn2)启动线粒体融合^[56-58]。线粒体出现损伤而发生去极化,SUMO2 与受损线粒体上的 MFN1/2 结合而发生 SUMO2 化,MFN1/2-SUMO2

将受损的线粒体在核周区域进行隔离,以便它们最终在细胞中通过线粒体自噬降解^[59]。OPA1 是线粒体内膜融合和嵴重塑的主要调控因子^[60-62]。沉默调节蛋白 3 (sirtuin3, SIRT3) 为 SUMO1 修饰的靶蛋白^[63], SIRT3 的 SUMO1 化修饰抑制 SIRT3 去乙酰化活性, SENP1 促使 SIRT3-SUMO1 发生去 SUMO 化,激活 SIRT3 的去乙酰化活性,降低线粒体金属蛋白酶 YME1L1 的乙酰化, YME1L1 的去乙酰化抑制其对 OPA1 的切割,促进线粒体融合^[64],进而影响线粒体代谢^[65]。双特异性蛋白磷酸酶 6 (dual-specificity phosphatase 6, DUSP6) 是氧化细胞损伤的核心参与者,正常条件下, DUSP6 在 C 端残基 K234 处与 SUMO1 结合发生 SUMO 化,增强 DUSP6 蛋白的稳定性,使 Drp1-S616 在非氧化条件下不能被进一步磷酸化,以防止线粒体过度裂变,帮助维持线粒

体融合/分裂的平衡;在 H_2O_2 诱导条件下,细胞 SENP1 的 mRNA 和蛋白质水平随时间相关性上调, DUSP6 发生去 SUMO1 化,进而被泛素-蛋白酶体途径降解, DUSP6 的丢失导致 Drp1-S616 被过度磷酸化,使线粒体动力学的平衡向裂变倾斜,由此产生线粒体碎裂导致细胞凋亡^[66]。死亡结构域相关蛋白 (Fas-associated protein with death domain, FADD) 被认为在泛素化后作为负调节因子参与凋亡或坏死^[67]。FADD 在赖氨酸 125、149 和 153 位点被 SUMO2 修饰, SUMO 化的 FADD 与 Drp1 相互作用,同时与 Caspase-10 形成三元蛋白复合物,促进 Drp1 转位到线粒体,导致 Drp1 介导的线粒体碎裂,最终导致细胞坏死^[68]。综上所述,线粒体动力学相关蛋白 SUMO 化修饰可影响线粒体动力学,进而影响 MQC,可能发挥对 CI/RI 的保护作用 (图 1)。

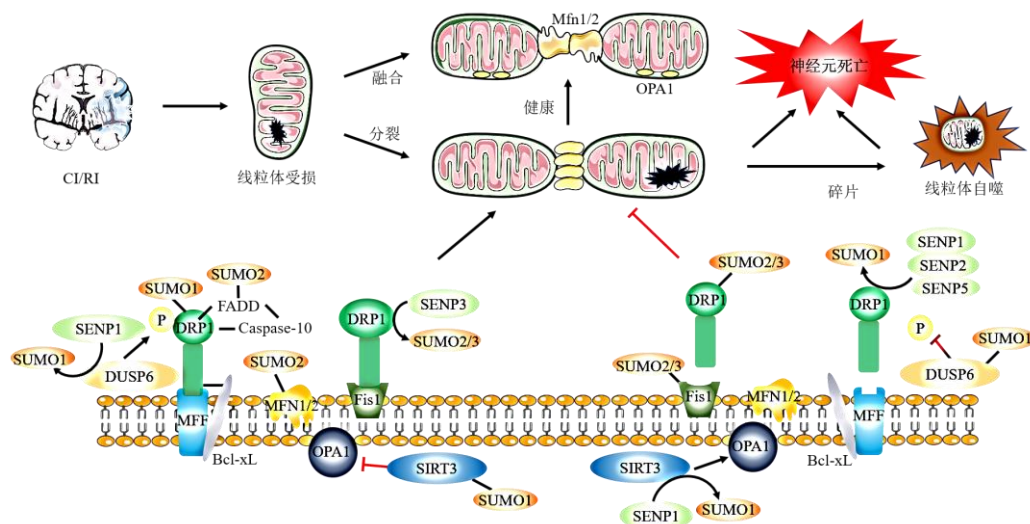


图 1 CI/RI 过程线粒体动力学及相关蛋白 SUMO 化修饰的可能机制

Fig. 1 Possible mechanism of mitochondrial dynamics and SUMOylation of related proteins in CI/RI

4 中医药干预 CI/RI 后线粒体动力学及相关蛋白 SUMO 化修饰

中医药在缺血性脑卒中的康复治疗历史悠久,疗效显著,对 CI/RI 的保护作用频见报道,然而其潜在作用机制目前尚不清晰。线粒体动力学作为 MQC 的重要调控环节,受到同行的普遍关注。诸多研究显示,中药单体、单味中药、方剂以及针灸等均对线粒体动力学具有较好的改善作用。其中,中药单体方面,白藜芦醇通过激活 AMPK-Mfn1 通路,降低线粒体氧化应激,改善线粒体能量代谢;促进 Drp1 蛋白从胞质往线粒体转移,上调线粒体自噬相关蛋白微管相关蛋白 1 轻链 3B-II/I (microtubule-

associated protein 1 light chain 3B-II/I, LC3B-II/I), 下调 p62、PHB2 的表达,上调线粒体生成相关蛋白 Nrf1、TFAM 的表达,维持线粒体稳态,抑制线粒体凋亡,促进神经元存活^[69-70]。木犀草素通过改善自噬流过程促进线粒体自噬小体的降解,加速 ROS 的清除效率;抑制 Drp1 活性保护线粒体形态,减少 ROS 的产生,防止脑缺血/再灌注后 ROS 大量堆积,减少 CI/RI^[71]。山茱萸环烯醚萜苷能显著改善大鼠神经功能缺损,上调 Nip 样蛋白 (Nip-like protein X, NIX) 和 Beclin1 的表达,激活线粒体自噬;上调 Drp1、OPA1 的表达,促进线粒体分裂融合,上调 PGC-1 α 以增加线粒体生物合成,从而改善线粒体

结构变化,减轻线粒体损伤,发挥对 CI/RI 的保护作用^[72]。丹参酮 II_A 能够改善大鼠缺血区脑血流量,减少脑梗死体积,通过减少 Drp-1、瞬时受体电位离子通道蛋白 7 表达,抑制线粒体分裂及神经元凋亡^[73]。银杏内酯 K 减弱 Drp1 与糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 的结合阻止 Drp1 和 GSK-3 β 转位到线粒体,增强 Drp1-Ser637 位点的磷酸化,减少 Drp1 水平,减少线粒体裂变;诱导 GSK-3 β -Ser9 位点磷酸化,增强腺嘌呤核苷酸转位器 (adenine nucleotide translocator, ANT) 与 p-GSK-3 β 的相互作用,抑制 ANT 与亲环素 D 的相互作用,抑制 mPTP 的开放,发挥神经保护作用^[74]。白术内酯 III 通过抑制 Janus 激酶 2 (Janus kinase 2, JAK2) / 信号转导及转录激活因子 3 (signal transducers and activators of transcription 3, STAT3) 通路,抑制 MCAO/R 小鼠和 OGD/R 原代小胶质细胞炎症因子的分泌;降低 OGD/R 诱导的原代小胶质细胞 Drp1 磷酸化,从而抑制 Drp1 转位到线粒体,抑制线粒体分裂,从而发挥神经保护作用^[75]。川续断皂苷 B 能减少线粒体分裂、增加线粒体融合蛋白的表达,减轻血管内皮损伤,维持线粒体正常形态并最终缓解 I/R 带来的能量代谢紊乱^[76]。20(R)-人参皂苷 Rg₃ 可激活 Nrf2 信号通路,增强下游抗氧化因子,减少 Fis1 和 Drp1 蛋白和 mRNA 的表达以减少线粒体分裂,增加 Mfn1、Mfn2 和 OPA1 蛋白和 mRNA 的表达以增加线粒体融合来维持线粒体

的结构与功能的稳定,减轻 I/R 导致的线粒体氧化应激,改善大鼠 CI/RI^[77]。单味中药方面,西红花提取物可明显降低 MCAO/R 大鼠神经功能缺损,降低 Drp1 表达,上调 OPA1 表达,抑制线粒体分裂,促进线粒体融合,进而调控线粒体动力学,维持线粒体正常形态,减轻 I/R 带来的能量代谢紊乱,抑制神经元坏死及星形胶质细胞恶性增殖,促进缺血区神经元的恢复^[78]。中药复方方面,安脑片能够减少 MCAO/R 大鼠脑梗死体积,上调缺血皮质半暗区 PINK1、Parkin 表达,减少 Drp1 的过度激活,上调 OPA1 蛋白水平,提高 Bcl-2/Bcl-2 相关 X 蛋白值,增强线粒体融合和线粒体自噬,改善 MQC,抑制细胞凋亡,发挥抗 CI/RI 的作用^[7]。补阳还五汤能够下调 CI/RI 大鼠 Drp1、Fis1、细胞色素 C 的表达水平,抑制线粒体分裂,降低 Ca²⁺ 浓度及钙调神经磷酸酶活性,减轻大鼠海马神经元凋亡^[79]。塞络通胶囊可下调 Drp1 蛋白和基因表达,上调 OPA1 蛋白和基因表达,抑制线粒体分裂,促进线粒体融合,抑制缺血侧皮质区线粒体动力学异常,减轻 CI/RI 带来的能量代谢紊乱,维持线粒体形态,改善 CI/RI^[80]。针灸方面,电针预处理百会穴能够降低 CI/RI 大鼠缺血侧半暗区总 Drp1、细胞色素 C 和线粒体 Drp1、胞质细胞色素 C 的表达,抑制线粒体裂变,维持线粒体形态,减少凋亡细胞的比例,从而改善了神经功能^[81-82]。靶向调节线粒体动力学防治 CI/RI 中医药研究概况见表 1。

表 1 靶向调节线粒体动力学防治 CI/RI 中医药研究概况

Table 1 Advance in treatment of traditional Chinese medicine against CI/RI by targeting mitochondrial dynamics

治疗方式	中药/其他干预方式	疾病模型	作用靶点及机制		文献
			线粒体分裂	线粒体融合	
中药单体	白藜芦醇	N2a 细胞低氧复氧模型、小鼠 MCAO/R 模型、HT22 细胞 OGD/R 模型	Drp1 ↓	Mfn1 ↑	69-70
	木犀草素	SH-SY5Y 细胞 OGD/R 模型、小鼠 MCAO/R 模型	Drp1 ↓		71
	山茱萸环烯醚萜苷	大鼠 MCAO/R 模型	Drp1 ↑	OPA1 ↑	72
	丹参酮 II _A	大鼠 MCAO/R 模型	Drp1 ↓		73
	银杏内酯 K	SHSY5Y 细胞 OGD/R 模型	Drp1 ↓		74
	白术内酯 III	小鼠 MCAO/R 模型、原代小胶质细胞 OGD/R 模型	p-Drp1 ↓		75
	川续断皂苷 B	大鼠 MCAO/R 模型、PC12 细胞 OGD/R 模型	Drp1 ↓	Mfn2 ↑	76
	20(R)-人参皂苷 Rg ₃	大鼠 MCAO/R 模型、PC12 细胞 OGD/R 模型	Drp1 ↓	Mfn1/2 ↑, OPA1 ↑	77
	西红花提取物	大鼠 MCAO/R 模型	Drp1 ↓	OPA1 ↑	78
中药复方	安脑片	大鼠 MCAO/R 模型	Drp1 ↑	OPA1 ↑	7
	补阳还五汤	大鼠颈动脉引流法脑缺血再灌注模型	Drp1 ↓, Fis1 ↓		79
	塞络通胶囊	大鼠 MCAO/R 模型	Drp1 ↓	OPA1 ↑	80
针灸	电针	大鼠 MCAO/R 模型	Drp1 ↓		81-82

“↑”表示上升,“↓”表示下降

“↑” means increase, “↓” means decrease

在 CI/RI 过程中, 针对线粒体动力学相关蛋白的 SUMO 化修饰的干预研究鲜有报道。张会军^[47]发现敲除 SENP1 的 tMCAO/R 小鼠 Drp1 的 SUMO1 修饰水平明显增多, 提高了 Drp1 的稳定性, 促进了线粒体分裂, 导致线粒体途径凋亡增加; SENP1 可通过下调 Drp1 的 SUMO1 修饰水平, 减少神经细胞凋亡, 在 CI/RI 中发挥神经保护作用。目前中医药对线粒体动力学相关蛋白的 SUMO 化修饰进行直接干预研究尚未报道, 然而, 有研究发现, 中药丹参能够通过激活 SUMO 循环通路途径, 提高 OGD 神经元中 SUMO2/3 的表达, 诱导 SUMO2/3 由细胞质向细胞核发生位移, 发挥对缺血神经元的保护作用^[83]。槲皮素能够通过下调 SENP1 和 SENP2, 上调 SENP3, 显著增加缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 的 SUMO 化偶联; 通过下调 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 的表达, 促进 Nrf2 的生成, 最终诱导血红素氧合酶-1 上调, 增强一氧化氮合酶 1/蛋白激酶 G 信号通路, 从而保护神经元免受 OGD 和 OGD/R 诱导的细胞死亡^[84]。宋佰慧等^[85]发现蒙药珍宝丸可能通过降低脑组织水肿和丙二醛含量, 提高超氧化物歧化酶活性, 激活 HIF-1 α 和 SUMO1~3 的表达发挥对心搏骤停大鼠脑缺血缺氧损伤的保护作用。电针刺激百会穴预处理能进一步上调 Ubc9 的表达, 进而提高 SUMO2/3 化修饰进程, 激活机体的内源性保护机制, 增强大鼠 CI/RI 耐受, 发挥脑保护作用^[43]。上述研究为线粒体动力学相关蛋白 SUMO 化修饰为治疗靶点的中医药防治 CI/RI 机制研究提供了新的视角和可行思路。

5 结语与展望

CI/RI 是一个复杂的病理生理过程, 由于能量缺乏以及再灌注引起过量的 ROS 产生、线粒体内钙超载以及氧化应激等损伤线粒体呼吸链, 导致线粒体结构和功能损伤, 造成 mPTP 的大量开放, 使线粒体膜电位下降, 线粒体质量失控, 线粒体稳态失衡, 引起受累器官组织的细胞程序性死亡或坏死, 因此恢复线粒体稳态是 I/R 损伤康复的首要关口。线粒体动力学是实现 MQC、维持线粒体稳态的关键环节, 其相关蛋白的 SUMO 化和去 SUMO 化修饰的动态平衡, 可良性调控线粒体的分裂与融合, 恢复和维持线粒体稳态。当前, 已有较多研究报道中医药通过调控线粒体动力学相关蛋白, 实现 MQC, 防治 CI/RI。尽管针对线粒体动力相关蛋白的 SUMO

化修饰的中医药干预研究未见报道, 相信随着对线粒体结构与功能稳态以及 SUMO 化修饰机制的研究不断深入, 以 SUMO 化修饰调控线粒体动力学为干预靶点的中医药研究可能为防治缺血性脑病特别是 CI/RI 的康复转归带来新希望。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Chen Y P, Wright N, Guo Y, *et al.* Mortality and recurrent vascular events after first incident stroke: A 9-year community-based study of 0.5 million Chinese adults [J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(4): e580-e590.
- [2] Virani S S, Alonso A, Aparicio H J, *et al.* Heart disease and stroke statistics—2021 update [J]. *Circulation*, 2021, 143(8): e254-e743.
- [3] Rabinstein A A. Update on treatment of acute ischemic stroke [J]. *Continuum*, 2020, 26(2): 268-286.
- [4] Eltzschig H K, Eckle T. Ischemia and reperfusion: From mechanism to translation [J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1391-1401.
- [5] Anzell A R, Maizy R, Przyklenk K, *et al.* Mitochondrial quality control and disease: Insights into ischemia-reperfusion injury [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(3): 2547-2564.
- [6] Liu F, Lu J F, Manaenko A, *et al.* Mitochondria in ischemic stroke: New insight and implications [J]. *Aging Dis*, 2018, 9(5): 924-937.
- [7] Zhang Y, Cao M Y, Wu Y M, *et al.* Improvement in mitochondrial function underlies the effects of ANNAO tablets on attenuating cerebral ischemia-reperfusion injuries [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 246: 112212.
- [8] He Z, Ning N Y, Zhou Q X, *et al.* Mitochondria as a therapeutic target for ischemic stroke [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 146: 45-58.
- [9] Yuan Y, Zhang X N, Zheng Y R, *et al.* Regulation of mitophagy in ischemic brain injury [J]. *Neurosci Bull*, 2015, 31(4): 395-406.
- [10] Jadia P, Tomar D. Mitochondrial protein quality control mechanisms [J]. *Genes*, 2020, 11(5): 563.
- [11] Pfanner N, Warscheid B, Wiedemann N. Mitochondrial proteins: From biogenesis to functional networks [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(5): 267-284.
- [12] Sugiura A, McLelland G L, Fon E A, *et al.* A new pathway for mitochondrial quality control: Mitochondrial-derived vesicles [J]. *EMBO J*, 2014, 33(19): 2142-2156.
- [13] Ma K L, Chen G, Li W H, *et al.* Mitophagy, mitochondrial homeostasis, and cell fate [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 467.

- [14] Ryan T A, Phillips E O, Collier C L, *et al.* Tollip coordinates parkin-dependent trafficking of mitochondrial-derived vesicles [J]. *EMBO J*, 2020, 39(11): e102539.
- [15] Ding W X, Yin X M. Mitophagy: Mechanisms, pathophysiological roles, and analysis [J]. *Biol Chem*, 2012, 393(7): 547-564.
- [16] Burman J L, Pickles S, Wang C X, *et al.* Mitochondrial fission facilitates the selective mitophagy of protein aggregates [J]. *J Cell Biol*, 2017, 216(10): 3231-3247.
- [17] Peng K G, Yang L K, Wang J, *et al.* The interaction of mitochondrial biogenesis and fission/fusion mediated by PGC-1 α regulates rotenone-induced dopaminergic neurotoxicity [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(5): 3783-3797.
- [18] Dabrowska A, Venero J L, Iwasawa R, *et al.* Erratum: PGC-1 α controls mitochondrial biogenesis and dynamics in lead-induced neurotoxicity [J]. *Aging: Albany NY*, 2015, 7(11): 1023.
- [19] McLelland G L, Soubannier V, Chen C X, *et al.* Parkin and PINK1 function in a vesicular trafficking pathway regulating mitochondrial quality control [J]. *EMBO J*, 2014, 33(4): 282-295.
- [20] El-Hattab A W, Suleiman J, Almannai M, *et al.* Mitochondrial dynamics: Biological roles, molecular machinery, and related diseases [J]. *Mol Genet Metab*, 2018, 125(4): 315-321.
- [21] Osellame L D, Singh A P, Stroud D A, *et al.* Cooperative and independent roles of the Drp1 adaptors Mff, MiD49 and MiD51 in mitochondrial fission [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(11): 2170-2181.
- [22] Tilokani L, Nagashima S, Paupe V, *et al.* Mitochondrial dynamics: Overview of molecular mechanisms [J]. *Essays Biochem*, 2018, 62(3): 341-360.
- [23] Cohen M M, Tareste D. Recent insights into the structure and function of mitofusins in mitochondrial fusion [J]. *FEBS J*, 2018, 261: F1000-F1083.
- [24] Cao Y L, Meng S X, Chen Y, *et al.* MFN1 structures reveal nucleotide-triggered dimerization critical for mitochondrial fusion [J]. *Nature*, 2017, 542(7641): 372-376.
- [25] Gao S, Hu J J. Mitochondrial fusion: The machineries in and out [J]. *Trends Cell Biol*, 2021, 31(1): 62-74.
- [26] 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.
- [27] Zhang N, Wang S L, Li Y, *et al.* A selective inhibitor of Drp1, mdivi-1, acts against cerebral ischemia/reperfusion injury via an anti-apoptotic pathway in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2013, 535: 104-109.
- [28] 刘刚, 门运政, 童旭辉, 等. 线粒体融合与裂变在右美托咪定减轻小鼠脑缺血再灌注损伤中的作用及其机制 [J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(4): 463-468.
- [29] Zhang L, He Z J, Zhang Q, *et al.* Exercise pretreatment promotes mitochondrial dynamic protein OPA1 expression after cerebral ischemia in rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(3): 4453-4463.
- [30] Kumar R, Bukowski M J, Wider J M, *et al.* Mitochondrial dynamics following global cerebral ischemia [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2016, 76: 68-75.
- [31] Wang H B, Zheng S F, Liu M D, *et al.* The effect of propofol on mitochondrial fission during oxygen-glucose deprivation and reperfusion injury in rat hippocampal neurons [J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0165052.
- [32] Zhao H, Pan W L, Chen L H, *et al.* Nur77 promotes cerebral ischemia-reperfusion injury via activating INF2-mediated mitochondrial fragmentation [J]. *J Mol Histol*, 2018, 49(6): 599-613.
- [33] Zhao H, Luo Y C, Chen L H, *et al.* Sirt3 inhibits cerebral ischemia-reperfusion injury through normalizing Wnt/ β -catenin pathway and blocking mitochondrial fission [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2018, 23(5): 1079-1092.
- [34] Lai Y X, Lin P Q, Chen M L, *et al.* Restoration of L-OPA1 alleviates acute ischemic stroke injury in rats via inhibiting neuronal apoptosis and preserving mitochondrial function [J]. *Redox Biol*, 2020, 34: 101503.
- [35] Geiss-Friedlander R, Melchior F. Concepts in sumoylation: A decade on [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(12): 947-956.
- [36] Tomasi M L, Ramani K. SUMOylation and phosphorylation cross-talk in hepatocellular carcinoma [J]. *Transl Gastroenterol Hepatol*, 2018, 3: 20.
- [37] Gareau J R, Lima C D. The SUMO pathway: Emerging mechanisms that shape specificity, conjugation and recognition [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(12): 861-871.
- [38] Garvin A J, Walker A K, Densham R M, *et al.* The deSUMOylase SENP2 coordinates homologous recombination and nonhomologous end joining by independent mechanisms [J]. *Genes Dev*, 2019, 33(5/6): 333-347.
- [39] Liang Y C, Lee C C, Yao Y L, *et al.* SUMO5, a novel poly-SUMO isoform, regulates PML nuclear bodies [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26509.
- [40] Bernstock J D, Yang W, Ye D G, *et al.* SUMOylation in brain ischemia: Patterns, targets, and translational implications [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2018, 38(1): 5-16.

- [41] Princz A, Tavernarakis N. SUMOylation in neurodegenerative diseases [J]. *Gerontology*, 2020, 66(2): 122-130.
- [42] 顾小飞, 李恒, 杨桐桦, 等. 低分子肝素通过促进 SUMO2/3 蛋白的表达及核转移对脑缺血再灌注大鼠发挥脑保护作用 [J]. 第三军医大学学报, 2017, 39(11): 1123-1129.
- [43] 张高峰, 王培, 符丽, 等. 电针预处理对大鼠脑缺血再灌注时皮质 Ubc9 表达的影响 [J]. 中华麻醉学杂志, 2020, 40(1): 107-110.
- [44] Zhang H J, Wang Y, Zhu A X, *et al.* SUMO-specific protease 1 protects neurons from apoptotic death during transient brain ischemia/reperfusion [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(11): e2484.
- [45] Sun G L, Qin W W, Wang Q, *et al.* Selective-cerebral-hypothermia-induced neuroprotection against-focal cerebral ischemia/reperfusion injury is associated with an increase in SUMO2/3 conjugation [J]. *Brain Res*, 2021, 1756: 147311.
- [46] Wasiak S, Zunino R, McBride H M. Bax/Bak promote sumoylation of DRP1 and its stable association with mitochondria during apoptotic cell death [J]. *J Cell Biol*, 2007, 177(3): 439-450.
- [47] 张会军. SUMO 特异性蛋白酶 1 (SEN1) 在脑缺血再灌注损伤中的作用 [D]. 上海: 上海交通大学, 2015.
- [48] Zunino R, Schauss A, Rippstein P, *et al.* The SUMO protease SENP5 is required to maintain mitochondrial morphology and function [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt 7): 1178-1188.
- [49] Fu J, Yu H M, Chiu S Y, *et al.* Disruption of SUMO-specific protease 2 induces mitochondria mediated neurodegeneration [J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(10): e1004579.
- [50] Martinou J C, Youle R J. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics [J]. *Dev Cell*, 2011, 21(1): 92-101.
- [51] Guo C, Wilkinson K A, Evans A J, *et al.* SENP3-mediated deSUMOylation of Drp1 facilitates interaction with Mff to promote cell death [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43811.
- [52] Guo C, Hildick K L, Jiang J W, *et al.* SENP3 promotes an mff-primed Bcl-xL-Drp1 interaction involved in cell death following ischemia [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 752260.
- [53] Guo C, Hildick K L, Luo J, *et al.* SENP3-mediated deSUMOylation of dynamin-related protein 1 promotes cell death following ischaemia [J]. *EMBO J*, 2013, 32(11): 1514-1528.
- [54] Waters E, Wilkinson K A, Harding A L, *et al.* The SUMO protease SENP3 regulates mitochondrial autophagy mediated by Fis1 [J]. *EMBO Rep*, 2022, 23(2): e48754.
- [55] Allen G F G, Toth R, James J, *et al.* Loss of iron triggers PINK1/parkin-independent mitophagy [J]. *EMBO Rep*, 2013, 14(12): 1127-1135.
- [56] Chen H, Chan D C. Mitochondrial dynamics: Fusion, fission, movement, and mitophagy: In neurodegenerative diseases [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(R2): R169-R176.
- [57] Scott I, Youle R J. Mitochondrial fission and fusion [J]. *Essays Biochem*, 2010, 47: 85-98.
- [58] Westermann B. Molecular machinery of mitochondrial fusion and fission [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(20): 13501-13505.
- [59] Kim C, Juncker M, Reed R, *et al.* SUMOylation of mitofusins: A potential mechanism for perinuclear mitochondrial congression in cells treated with mitochondrial stressors [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867(6): 166104.
- [60] Civiletto G, Varanita T, Cerutti R, *et al.* Opa1 overexpression ameliorates the phenotype of two mitochondrial disease mouse models [J]. *Cell Metab*, 2015, 21(6): 845-854.
- [61] Mishra P, Carelli V, Manfredi G, *et al.* Proteolytic cleavage of Opa1 stimulates mitochondrial inner membrane fusion and couples fusion to oxidative phosphorylation [J]. *Cell Metab*, 2014, 19(4): 630-641.
- [62] Wai T, García-Prieto J, Baker M J, *et al.* Imbalanced OPA1 processing and mitochondrial fragmentation cause heart failure in mice [J]. *Science*, 2015, 350(6265): aad0116.
- [63] Wang T S, Cao Y, Zheng Q, *et al.* SENP1-Sirt3 signaling controls mitochondrial protein acetylation and metabolism [J]. *Mol Cell*, 2019, 75(4): 823-834.e5.
- [64] He J L, Shanguan X, Zhou W, *et al.* Glucose limitation activates AMPK coupled SENP1-Sirt3 signalling in mitochondria for T cell memory development [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4371.
- [65] He J L, Cheng J K, Wang T S. SUMOylation-mediated response to mitochondrial stress [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(16): 5657.
- [66] Ma R N, Ma L N, Weng W J, *et al.* DUSP6 SUMOylation protects cells from oxidative damage via direct regulation of Drp1 dephosphorylation [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(13): eaaz0361.
- [67] Lee E W, Kim J H, Ahn Y H, *et al.* Ubiquitination and degradation of the FADD adaptor protein regulate death receptor-mediated apoptosis and necroptosis [J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 978.
- [68] Choi S G, Kim H, Jeong E I, *et al.* SUMO-modified FADD recruits cytosolic Drp1 and caspase-10 to mitochondria for

- regulated necrosis [J]. *Mol Cell Biol*, 2017, 37(2): e00254-e00216.
- [69] Gao J B, Wang H J, Li Y J, *et al.* Resveratrol attenuates cerebral ischaemia reperfusion injury via modulating mitochondrial dynamics homeostasis and activating AMPK-Mfn1 pathway [J]. *Int J Exp Pathol*, 2019, 100(5/6): 337-349.
- [70] 向菲. 白藜芦醇对脑缺血再灌注损伤中线粒体的保护作用及相关机制研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2019.
- [71] 曾雪, 王龙, 赖玉洁, 等. 木犀草素通过抑制 Drp1 活性改善自噬流过程减少脑缺血再灌注后氧化应激损伤 [J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(18): 1777-1786.
- [72] 王明洋, 孙争宇, 张丽, 等. 山茱萸环烯醚萜苷对脑缺血再灌注大鼠线粒体损伤的影响 [J]. 首都医科大学学报, 2020, 41(3): 385-390.
- [73] 肖晗, 汤其强, 刘磊磊, 等. 丹参酮 II_A 对大鼠脑缺血再灌注后细胞凋亡、Drp-1、TRPM7 表达的影响 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2013, 39(12): 719-723.
- [74] Zhou X, Wang H Y, Wu B, *et al.* Ginkgolide K attenuates neuronal injury after ischemic stroke by inhibiting mitochondrial fission and GSK-3 β -dependent increases in mitochondrial membrane permeability [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(27): 44682-44693.
- [75] Zhou K C, Chen J, Wu J Y, *et al.* Atractylenolide III ameliorates cerebral ischemic injury and neuroinflammation associated with inhibiting JAK2/STAT3/Drp1-dependent mitochondrial fission in microglia [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152922.
- [76] 任凯迪, 彭紫梅, 罗秀菊, 等. 川续断皂苷 B 抑制线粒体 E3 泛素连接酶 1 减轻缺血性中风大鼠脑损伤 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(10): 795.
- [77] 陈德云. 20(R)-人参皂苷 Rg₃ 调控 Nrf2 通路抑制线粒体氧化应激抗脑缺血再灌注损伤的研究 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2021.
- [78] 张业昊, 姚明江, 丛伟红, 等. 西红花提取物对局灶型脑缺血/再灌注大鼠线粒体分裂融合的影响 [J]. 中国药理学通报, 2018, 34(6): 770-775.
- [79] 韦辰, 王士雷, 孔宪刚, 等. 补阳还五汤对脑缺血再灌注损伤大鼠线粒体分裂蛋白 Drp1、Fis1 及细胞色素 C 表达的影响 [J]. 陕西中医, 2017, 38(10): 1481-1483.
- [80] 张业昊, 丛伟红, 徐立, 等. 塞络通胶囊对局灶型脑缺血/再灌注大鼠线粒体动力学的影响 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(10): 1984-1988.
- [81] Zhang G F, Yang P, Yin Z, *et al.* Electroacupuncture preconditioning protects against focal cerebral ischemia/reperfusion injury via suppression of dynamin-related protein 1 [J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(1): 86-93.
- [82] 张照亮, 刘玉秋, 张高峰, 等. 电针预处理对大鼠脑缺血再灌注时脑组织动力相关蛋白 1 活性的影响 [J]. 中华麻醉学杂志, 2017, 37(12): 1498-1501.
- [83] 王慧钢, 于思淼, 邱瑾, 等. SUMO-2/3 活化介导丹参对缺血神经元的保护机制 [J]. 天津中医药, 2015, 32(7): 420-423.
- [84] Lee Y J, Bernstock J D, Nagaraja N, *et al.* Global SUMOylation facilitates the multimodal neuroprotection afforded by quercetin against the deleterious effects of oxygen/glucose deprivation and the restoration of oxygen/glucose [J]. *J Neurochem*, 2016, 138(1): 101-116.
- [85] 宋佰慧, 宋晓环, 孙冬梅. 珍宝丸预处理对心搏骤停大鼠脑缺血缺氧损伤的影响及机制 [J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(20): 4427-4429.

[责任编辑 崔艳丽]