

· 综述与专论 ·



扫描二维码
查看原文

线粒体转移在脑卒中后认知障碍中的研究进展

肖雨倩¹, 白艳杰^{2*}, 王岩¹, 陈淑颖¹, 陈丽敏¹, 孙可心¹, 万俊¹

【摘要】 脑卒中常导致持续性脑卒中后认知障碍 (PSCI), 主要表现为学习、记忆等方面的障碍。目前, PSCI 发病机制尚不完全清楚, 但与线粒体功能障碍密切相关, 健康线粒体对神经元存活至关重要。近年来研究表明, 细胞间线粒体转移可通过增加神经元活力、增强线粒体代谢、调控神经炎症等过程与脑卒中联系, 从而改善认知障碍。本文概述了线粒体转移的机制以及细胞间线粒体转移在 PSCI 中的关键作用, 并探讨了线粒体移植作为 PSCI 的新型治疗干预措施的效果, 为其临床防治提供参考。

【关键词】 卒中; 认知障碍; 线粒体转移; 隧道纳米管; 细胞外囊泡; 间隙连接; 综述

【中图分类号】 R 743 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0162

【引用本文】 肖雨倩, 白艳杰, 王岩, 等. 线粒体转移在脑卒中后认知障碍中的研究进展 [J]. 中国全科医学, 2023, 26 (30): 3833-3840. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0162. [www.chinagp.net]

XIAO Y Q, BAI Y J, WANG Y, et al. Research progress of mitochondrial transfer in post-stroke cognitive impairment [J]. Chinese General Practice, 2023, 26 (30): 3833-3840.

Research Progress of Mitochondrial Transfer in Post-stroke Cognitive Impairment XIAO Yuqian¹, BAI Yanjie^{2*}, WANG Yan¹, CHEN Shuying¹, CHEN Limin¹, SUN Kexin¹, WAN Jun¹

1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. The First Affiliated Hospital of Henan University of CM, Zhengzhou 450000, China

*Corresponding author: BAI Yanjie, Associate chief physician; E-mail: baiyj66@126.com

【Abstract】 Stroke often leads to persistent post-stroke cognitive impairment (PSCI), which mainly manifests as impairment in learning and memory. The pathogenesis remains unclear as present, but it is closely related to mitochondrial dysfunction, and healthy mitochondria are essential for neuronal survival. Recent studies have shown that intercellular mitochondrial transfer can be linked to stroke through increasing neuronal viability, enhancing mitochondrial metabolism, and modulating neuroinflammation, thereby improving cognitive impairment. This review overviews the mechanisms of mitochondrial transfer and the key role of intercellular mitochondrial transfer in PSCI, and discusses that mitochondrial transplantation may serve as a novel therapeutic intervention for PSCI, providing references for its clinical management.

【Key words】 Stroke; Cognition disorders; Mitochondrial transfer; Tunneling nanotubes; Extracellular vesicles; Gap junction; Review

脑卒中后认知障碍 (post-stroke cognitive impairment, PSCI) 定义为卒中后发生任何类型的认知恶化, 范围从认知损伤到痴呆^[1], 主要表现为失语、记忆缺陷及视觉空间、注意力和执行功能障碍, 长期认知功能障碍对患者日常生活造成严重危害。PSCI 发病

机制复杂, 相关的神经病理学基础包括氧化应激、炎症和细胞死亡等^[2]。目前, 为了改善临床结局, 急性缺血性卒中患者的最佳治疗方案包括静脉注射组织纤溶酶原激活剂和血管内血栓切除术。然而, 由于缺血性卒中的治疗时间窗口狭窄, 只有少数患者接受溶栓或血管内治疗。为了解决目前卒中治疗方法的短缺问题, 确定新的潜在治疗靶点十分重要^[3]。

线粒体通过氧化磷酸化和产生三磷酸腺苷 (ATP) 提供驱动细胞生理功能的能量, 其功能障碍包括一系列线粒体缺陷, 例如生物能量损伤、产生大量活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、线粒体自噬功能障碍和线粒体动力学改变等。因此在 PSCI 的发病机制中, 健康的线粒体起着至关重要的作用^[3-4]。最近, 细胞间

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1706004); 河南省中医药科学研究专项重点课题 (20-21ZY1009); 河南省中医药传承与创新人才工程 (仲景工程) 中医药学科拔尖人才 (CZ0237-08); 河南省科技攻关计划 (222102310529); 河南省卫健委国家中医临床研究中心基地科研专项 (2022JDZX005); 河南省中医药拔尖人才培养项目专项课题 (2022ZYBJ07)

1.450046 河南省郑州市, 河南中医药大学

2.450000 河南省郑州市, 河南中医药大学第一附属医院

*通信作者: 白艳杰, 副主任医师; E-mail: baiyj66@126.com

本文数字出版日期: 2023-04-20

线粒体转移被认为是一种新型的细胞间信号传导形式,该过程是通过细胞间隧道纳米管(tunneling nanotubes, TNT)、细胞外囊泡(extracellular vesicles, EV)、间隙连接(gap junction, GJ)或其他途径将整个线粒体转移出供体细胞,随后线粒体被受体细胞内化纳入或进一步处理以进行降解^[5]。本综述侧重于线粒体转移在PSCI中的具体作用,以期为临床防治PSCI提供潜在靶点及理论依据。

本文文献检索策略:计算机检索PubMed、Web of Science、中国知网(CNKI)、万方数据知识服务平台等数据库,检索时间为建库至2023年1月,中文检索词包括“脑卒中后认知障碍”“线粒体转移”“隧道纳米管”“细胞外囊泡”“间隙连接”,英文检索词包括“mitochondrial transfer”“tunneling nanotubes”“extracellular vesicles”“gap junction”“post-stroke cognitive impairment”。文献纳入标准:文献内容涉及线粒体转移对PSCI的影响、线粒体转移的神经生物学机制。文献排除标准:与本文主题无关联的文献、质量较差的文献、无法获取全文的文献等。最终纳入文献71篇。

1 线粒体转移的结构机制

1.1 TNT TNT是直径在50~150 nm的长距离管状结构或突起,依赖于细胞骨架纤维来源的肌动蛋白和微管,是不同细胞成分的运输途径^[6]。值得注意的是,TNT介导的转移可以是单向的,也可以是双向的。诱导线粒体损伤的各种危险因素可以促进TNT的形成和线粒体的转移,但很少有研究关注TNT的起始机制和调节。

TNT是开放式膜肌动蛋白导管,膜和细胞骨架动力学的调节可能在TNT的生物发生中起主要作用。有研究显示,细胞骨架的主要调节因子——经典的GTP酶Rho家族(Rac1、Cdc42和RhoA)与TNT形成有关^[7]。Miro 1和Miro 2是一类新型Rho-GTP酶^[8],将线粒体与KLF 5驱动蛋白结合,共同形成一种运动适配器复合物,有助于线粒体运输并调节线粒体在微管上的运动^[9]。此外,TSENG等^[10]研究还表明,Miro 1是TNT形成和神经元存活的必需物质。间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC) Miro1过表达后线粒体转移的效率越高,其积极作用就越高。据报道,大多数脑细胞,包括星形胶质细胞(astrocyte, AST)、神经元和小胶质细胞,通过TNT形成和线粒体转移对各种损伤做出反应,例如AST和小胶质细胞可以通过TNT相互影响,可能是清除大脑内有害蛋白质聚集体的重要机制^[11]。WANG等^[12]研究发现,在AST-神经元共培养中,暴露于应激刺激的细胞与未受刺激细胞建立TNT联系。同时,在神经元和AST之间形成的TNT的神经元接触位点观

察到连接蛋白43(connexin-43, Cx43)高表达^[13]。Cx43在TNT的调节中起关键作用,降低Cx43的表达显著影响了TNT的形成,并减少了线粒体转移^[14]。压力条件同样诱发TNT的形成,当细胞暴露于与ROS水平升高相关的缺血损伤时,线粒体以更有效的方式从MSC转移到AST和PC12细胞。

此外,据报道,Wnt/Ca²⁺通过参与肌动蛋白细胞骨架重塑的细胞内级联反应,在TNT形成和TNT介导的物质转移中发挥作用^[15];核因子κB(nuclear factor-κB, NF-κB)轻链增强子信号通路的活化刺激了肿瘤坏死因子α诱导蛋白2(tumor necrosis factor α-induced protein 2, TNF α ip2)的表达,诱发F-肌动蛋白聚合,促进TNT的形成,抑制NF-κB途径,减少TNT有益作用^[16]。进一步研究发现,TNT介导的线粒体转移主要表现为线粒体呼吸链的恢复、线粒体膜电位的增加以及ROS水平和细胞凋亡率的降低^[17]。

1.2 EV EV由CHARGAFF和WEST在1940年发现,是细胞分泌的微小囊泡颗粒,其有两种主要类型:外泌体和微囊泡(microvesicle, MV)。与其他形式的细胞间通讯,如激素、生长因子、细胞因子等直接相互作用不同,EV的独特之处在于其能包装活性物质,例如较小的囊泡可能含有线粒体片段,包括线粒体蛋白和线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA),而较大的颗粒可能含有整个功能性线粒体,并将其递送到另一个相邻或遥远的细胞,从而改变受体细胞的功能^[18]。

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)通过EV运输功能性线粒体,诱导中枢神经系统疾病动物模型的恢复^[19];AST通过EV调节神经元功能,促进突触形成并维持其正常功能^[20];由MSC衍生的EV中,平均大小为250 nm的含有功能齐全的线粒体^[21],转移到肝内中性粒细胞之后,对肝缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤具有治疗作用^[22]。除此之外,MSC-EVs可以释放micro-RNA(miR)-133b、miR-184、miR-210或miR-17-92,以促进神经发生和血管生成,改善轴突或树突形成和神经突触重塑,并抑制脑缺血性大鼠神经元的凋亡^[23]。EV是一类新兴的药物递送天然载体,在卒中模型小鼠中注射负荷线粒体的EV,可通过提高脑内皮细胞存活率保护血脑屏障(blood brain barrier, BBB),并减少大脑梗死面积^[24]。小鼠短暂性局灶性脑缺血时,EV在AST和神经元之间的线粒体跨细胞转移也被证明依赖于NAD⁺/CD38/环腺苷二磷酸核糖(cADPR)/Ca²⁺,CD38是一种II型跨膜糖蛋白,可催化cADPR的合成与降解,其传导的激活强烈地诱导了线粒体蛋白质的O-GlcNA糖基化修饰,支持AST释放的线粒体的功能,小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)抑制CD38表达后,EV的量显著减少,

并加剧了神经系统的损害^[25]。

线粒体除了在 EV 中被排出外, 还具有产生自己的囊泡的能力, 称为线粒体衍生囊泡 (mitochondria-derived vesicle, MDV), 以便将线粒体蛋白和脂质运输到细胞内的其他细胞器^[26]。MDV 是除了线粒体蛋白酶、泛素介导的蛋白酶体降解和线粒体自噬作用之外的新型线粒体质量控制手段。

1.3 GJ GJ 是连接蛋白的跨膜复合物, 允许细胞间通讯, 其中离子和小信号分子可以在相邻细胞之间转移^[9]。线粒体通过 GJ 内化在细胞之间转移, 这个过程中, 两个相连细胞中的一个细胞会吞噬 GJ, 然后占据相邻细胞的细胞膜和细胞质, 最终形成双膜囊泡, 通常称该囊泡为连接小体或环状间隙连接^[27]。

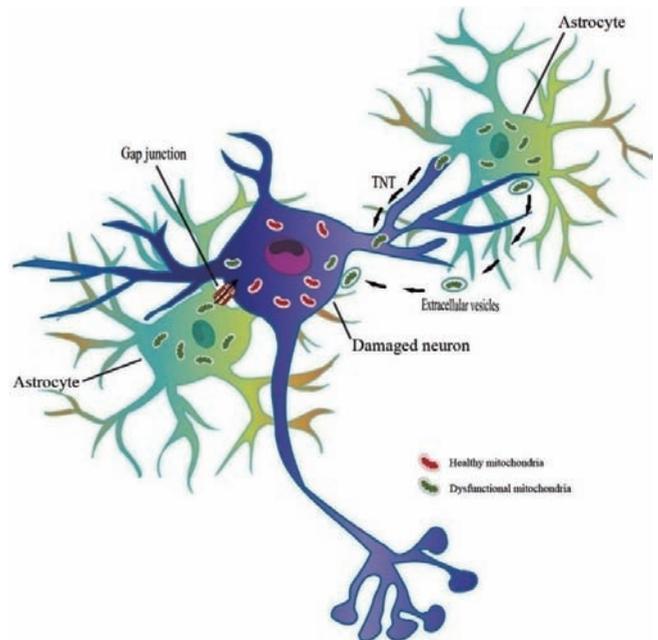
Cx43 是线粒体通过 GJ 转移所必需的, 已被证明在某些情况下可以保护脑组织免受 I/R 损伤。线粒体从 MSCs 到受伤运动神经元的转移是通过 GJ 发生的, 减少了氧糖剥夺 (OGD) 诱导的细胞凋亡, 促进神经元存活并改变脊髓前角运动神经元中细胞凋亡相关蛋白的表达。此外, 研究显示, MSCs 和神经元之间可能形成 Cx43 和 Cx32 的异型间隙连接, 其中 Cx43 在 MSC 中表达, 但不在运动神经元中表达; 同时, Cx32 在运动神经元中表达, 但不在 MSC 中表达^[28]。

另有研究认为, 编码 Cx43 的基因 GJA1, 还可以在内部翻译以产生长度为 20 kD 的肽, 称为间隙连接蛋白 $\alpha 1$ 截短单体-20k (gap junction protein alpha 1 truncated monomer-20k, GJA1-20k)^[29], GJA1-20k 促进微管依赖性线粒体转运并在细胞应激期间保持线粒体网络的完整性^[30]。且 GJA1-20k 上调 AST 中功能性 Cx43 表达, 促进线粒体从 AST 向神经元的传递^[31], 缺乏 GJA1-20k 会加速 Cx43 蛋白降解, 抑制线粒体的转移^[32]。鉴于 GJA1-20k 在心脏 I/R 损伤情况下的保护作用, GJA1-20k 可能在大脑 I/R 损伤中也具有治疗潜力。

1.4 通过其他途径进行线粒体转移: 细胞融合和线粒体挤出 如上所述, 线粒体从供体细胞转移到受体细胞在大多数情况下依赖于 TNT、EV 和 GJ。然而, 一些研究也报道, 通过细胞融合和线粒体挤出也可进行线粒体转移。细胞融合可导致两个细胞之间共享胞质内容物和细胞器, 但细胞核保持完整。基于一种仙台病毒包膜的方法, WADA 等^[33]证明可以让两个分离的细胞通过狭窄的细胞质连接融合, 随后, 其可以调控细胞质连接的距离, 以实现单个线粒体转移速率的定量控制。通过部分细胞融合和线粒体转移, MSCs 可以将成年小鼠心肌细胞重新编程为恢复活力的祖细胞样状态^[34]。来自骨髓和淋巴谱系的细胞可以低速率与不同的组织融合, 以响应损伤或炎症^[35]。细胞融合可以改变所涉及的细胞的潜力, 对再生和癌症具有重要意义。

线粒体挤出是细胞之间线粒体转移的另一种可能机制, 主要作为线粒体质量控制的一种发生手段或危险信号转导。在肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 诱导的坏死性凋亡细胞中, 细胞质液泡包围线粒体, 与质膜融合, 将游离线粒体释放到细胞外培养基。因为肌动蛋白或微管蛋白的不稳定抑制了细胞质液泡的形成, 所以完整的肌动蛋白和微管蛋白细胞骨架也是膜起泡和线粒体挤出所必需的。研究发现, 从应激细胞挤出的游离线粒体是引发炎症反应的特殊危险信号之一^[36]。BOUDREAU 等^[37]揭示了活化的血小板可以释放功能性线粒体, 将功能性线粒体由静脉注射到小鼠体内可促使中性粒细胞黏附在血管壁上, 导致中性粒细胞的激活和炎症反应。

神经元和 AST 之间的线粒体转移主要机制如图 1。



注: TNT= 隧道纳米管, Extracellular vesicles= 细胞外囊泡, Gap junction= 间隙连接, Astrocyte= 星形胶质细胞, Damaged neuron= 受损神经元, Healthy mitochondria= 健康线粒体, Dysfunctional mitochondria= 功能障碍线粒体。

图 1 线粒体转移的主要机制

Figure 1 The main mechanisms of mitochondrial transfer

2 线粒体转移在 PSCI 中的作用

2.1 增加神经元活力 缺血诱导的糖氧剥夺在受影响区域导致 ATP 产生降低, 线粒体 ROS 过度释放, 线粒体膜上的离子不平衡, 最终导致程序性细胞死亡^[3], 从而导致海马神经元在脑 I/R 后严重受损, 认知受到影响。线粒体从 AST 转移到神经元已被证明可以增加神经元存活率, 恢复神经元线粒体膜电位, 提高 ATP 水平, 使神经元钙动力学正常化, 并增加体外树突长度^[38]。在压力条件下, 神经元的线粒体释放也被认为是“求救”

信号,有缺陷的线粒体被吸收后,导致AST的线粒体Miro 1表达增加,有助于健康线粒体从AST转移到神经元^[38]。此过程涉及CD38,位于内质网上的Sigma-1受体分子伴侣(sigma-1 receptor chaperone, Sig-1R)通过激活细胞外调节蛋白激酶1/2(sxtracellular signal regulated kinase1/2, ERK1/2)增强CD38的表达,从而促进AST线粒体转移^[39]。另外,线粒体融合蛋白2(mitofusin 2, Mfn2)与线粒体相关内质网膜(mitochondria associated endoplasmic reticulum membrane, MAM)形成有关,介导了骨细胞之间的线粒体转移,且MAM在这方面可能具有未知的功能^[40]。HAYAKAWA等^[41]也证明了CD38信号传导介导了活化的AST中功能性线粒体的释放,恢复ATP水平和神经元活力。用局灶性脑缺血小鼠模型中培养的AST释放的含有细胞外线粒体的颗粒进行治疗,可对脑卒中小鼠提供神经保护。在体外,功能性线粒体可以通过TNT由MSC转移到受损的内皮细胞,从而拯救线粒体有氧呼吸并保护内皮细胞免于凋亡,显著提高受损微血管细胞的线粒体活性,减少梗死面积,利于血管再生,促进功能恢复^[42]。

以上研究表明,体外MSC到神经元线粒体递送和体内AST衍生线粒体转移均可促进神经元存活,适当增强脑卒中后线粒体转移有可能增强缺血区神经元活力并改善PSCI。

2.2 增强线粒体代谢 神经元能够释放受损的线粒体并转移到AST中进行降解和接收,这种能力首先在小鼠视网膜神经节细胞轴突中观察到,其通过与相邻AST直接接触时产生突起来挤出受损的线粒体,转移到AST后,线粒体通过传递自噬的过程中降解^[43]。线粒体对于突触功能和神经递质的合成、释放和摄取至关重要^[44]。损伤线粒体的累积可能导致神经损伤和突触功能障碍,突触缺失与认知缺陷和运动功能障碍密切相关^[45-46]。

神经元和AST之间形成了TNT样结构,并首次发现人类AST对神经元线粒体的内化和降解增加,且S100钙结合蛋白A4(s100 calcium binding protein A4, S100A4)可能参与此过程的线粒体转移^[47]。Rhes蛋白是大脑线粒体自噬的关键调节因子,已被证明通过TNT在纹状体神经元之间转移,并与受体细胞中受损的线粒体结合,这表明神经元也可能转移线粒体自噬增强蛋白以帮助传递自噬过程^[48]。在短暂的大脑中动脉缺血(middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠中给予自噬诱导剂西罗莫司可激活线粒体自噬,从而减轻线粒体功能障碍并改善神经系统结局。有趣的是,线粒体自噬在卒中的情况下也可能产生负面影响,其可能会引起线粒体不受控制的降解,从而导致细胞死亡^[49]。反之抑制线粒体钙离子单向转运蛋白(mitochondrial calcium

uniporter, MCU)可有效遏制过度线粒体自噬,保护神经元免受I/R损伤^[50]。

线粒体转移也被认为能够帮助细胞清除致病物质。例如,暴露于 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn)的小胶质细胞,已被证明可以通过TNT将线粒体和 α -syn转移到邻近的健康小胶质细胞,其中 α -syn被有效降解^[51]。受损细胞将损伤线粒体转移到健康细胞中进行内吞和降解,从而实现线粒体的循环^[52]。综上所述,这些发现强调了细胞间线粒体转移可以通过降解受损线粒体,确保海马神经元和突触的线粒体完整性,从而为治疗PSCI提供新的治疗靶点。

2.3 调控神经炎症 缺血性神经炎症是影响缺血性卒中发展和预后的重要病理标志^[53]。一旦启动炎症级联反应,就会加重神经元功能障碍,诱导BBB破裂,产生脑水肿,最终导致神经元死亡^[54]。外源性线粒体移植可以有效地驱动小胶质细胞表型转化,进而改善炎症反应,进一步改善认知障碍^[51, 55]。

神经炎症过程的启动主要发生在半影区域,可归因于缺血核心坏死细胞释放细胞内容物和促炎分子。这些炎症触发因素引起线粒体钙离子摄取增加、线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)开放和线粒体ROS过度产生,特别是在脑缺血时,线粒体mPTP的开放释放损伤相关的分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs),如ATP、ROS、心磷脂和mtDNA,参与NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermoprotein domain 3, NLRP3)的启动和激活,导致神经炎症和细胞焦亡^[56]。整个线粒体也可以从受损细胞中释放出来,并充当特殊的DAMPs,通过血红素氧化酶1(heme oxygenase-1, HO-1)信号通路被MSC吞噬和降解,随后刺激MSC中的线粒体生物发生^[57]。通过HO-1通路维持BBB的完整性,线粒体生物发生为细胞供给许多再生线粒体,均可缓解PSCI。由于受损的线粒体在促炎信号传导中起关键作用,因此通过MSC疗法修复线粒体功能可以隔离炎症并促进中枢神经系统稳态。MSC在卒中的假定治疗作用可能涉及通过健康线粒体转移到缺血大脑受损细胞中进行功能修复,从而减少有害炎症递质的释放,抑制继发性细胞死亡,维持脑血管正常功能^[58]。WEBB等^[59]证明,在小鼠卒中模型中用NSC-EVs治疗可显著减少神经损伤,对运动功能、记忆形成和慢性炎症也有积极影响。

体外研究发现,AST释放的线粒体似乎对小胶质细胞发挥抗炎作用,因为小胶质细胞通过摄取其释放线粒体增加了人蛋白(humanin, HN)水平,这与过氧化物酶体增殖物激活的受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ)及含锰超氧化物歧化酶

(manganese superoxide dismutase, Mn-SOD) 水平升高有关, 这两者均可促进小胶质细胞向抗炎修复性表型转化^[60]。然而, 与 AST 线粒体转移不同, 活化小胶质细胞通过功能失调的线粒体转移将炎症信号传播到 AST, 从而触发受体 AST 的促炎 A1 激活状态。这些小胶质细胞激活的 AST 反过来将碎片化的线粒体释放到细胞外空间, 通过抑制 ATP 产生和线粒体膜电位来触发神经元损伤^[61]。以上研究表明线粒体转移可以减轻神经炎症, 因此可能减轻脑血管疾病引起的认知障碍。

3 靶向线粒体移植治疗 PSCI

缺血性脑卒中后, 缺乏葡萄糖和氧气供应会干扰线粒体中的 ATP 合成, 导致能量失衡, 细胞稳态失调, 最终导致海马神经元大量死亡, 进而引起认知功能障碍。因此, 靶向线粒体是一种有前途的脑卒中后神经保护方法。

然而这种内源性机制在很大程度上不能限制脑缺血后神经元的退化, 需要外源性线粒体移植治疗进行干预(表 1)。线粒体移植已被证明在一系列条件下发挥神经保护作用并改善疾病严重程度。鼻内给予线粒体可缓解小鼠内侧前额叶皮质卒中光血栓模型中的认知障碍和线粒体功能障碍^[62]。一项脑缺血模型(MCAO)大鼠模型的随访研究表明, 受损脑微血管系统接受了从移植 MSC 转移的线粒体之后, 其线粒体活性明显提高, 血管生成增强, 脑梗死体积减小, 并且神经功能也得到了改善^[42]。研究表明, AST 线粒体移植能够调节脑出血后神经元抗氧化防御和神经可塑性, 促进神经元的功能恢复^[63]。除此之外, AST 在外源性线粒体的作用下可增强脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的表达, PSCI 与海马体中的 BDNF 密切相关, BDNF 有利于增强海马突触可塑性、神经发生和神经元存活^[64]。同时, 自体线粒体移植已被证明可以减少细胞氧化应激和细胞凋亡, 并改善缺血性脑卒中后的神经发生^[65]。其他脑疾病, 例如在精神分裂症的动物模型中发现, 在大鼠前额叶皮质内注射分离的正常线粒体可防止其注意力降低^[66]。

表 1 人工线粒体移植治疗 PSCI 的潜在靶点

Table 1 Potential targets for artificial mitochondrial transplantation for PSCI

线粒体来源	移植方法	效果	参考文献
间充质干细胞	动脉内注射	减少脑梗死面积	[42]
间充质干细胞	鼻腔内注射	提高认知功能	[62]
星型胶质细胞	静脉内注射	提高神经功能	[63]
小鼠肌肉细胞	脑室内注射	减少细胞凋亡	[65]
人淋巴细胞或大鼠脑细胞	前额叶皮质内注射	改善注意力缺陷	[66]

注: PSCI= 脑卒中后认知障碍。

不同细胞来源的线粒体均可产生治疗作用。事实上, AST 或 MSC 可能作为线粒体分离的供体细胞。分离的异源线粒体移植已被证明可以减小缺血性卒中大鼠模型中的梗死面积并改善行为结果^[67]。且正如大量动物和临床研究显示, MSC 移植正在成为缓解神经功能障碍的一种有前途的治疗方法。此外, 源自 MSC 的 EV 也促进了卒中后恢复, 其具有调节受体细胞基因表达的能力, 改变缺血性卒中所涉及的细胞特性, 并促进各种分子转移。通过抑制 EV 的释放, 其产生的有益效果也被抑制^[68-69]。在 MSC 与人外周血单个核细胞(PBMC)的共培养实验中, 当以增加的 MSC : PBMC 比率培养供体 MSC 时, 观察到线粒体转移呈剂量依赖性曲线^[70]。进一步体内研究, 通过用新鲜的人分离线粒体静脉内治疗阿尔茨海默病(AD)小鼠, 有利于治疗 AD 缺陷, 线粒体移植后 14 d, 接受外源性线粒体治疗的 AD 小鼠的认知能力显著提高, 改善了脑病理学和线粒体缺陷^[71]。线粒体的其他来源可能是内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPC), EPC 衍生的细胞外线粒体可以转移到脑内皮细胞, 并恢复线粒体功能, 修复破坏的 BBB。增强细胞间线粒体转移或许是改善神经系统疾病线粒体功能障碍的有效措施。

最后, 目前调查人工线粒体移植在大脑中的治疗效果的研究仅限于临床试验前的动物研究, 因此需要更多深层次的研究来证明该方法对人类患者的安全性和有效性。但以上研究结果可以表明, 线粒体转移到缺血性神经元有助于脑卒中的治疗, 线粒体移植可能是改善 PSCI 的潜在治疗策略。

4 小结与展望

人工线粒体移植已被证明在脑损伤、神经退行性疾病和神经发育障碍的临床前动物模型中具有神经保护作用。如前所述, 神经胶质细胞和大脑神经元间的线粒体转移可以增强神经元活力、帮助功能障碍的线粒体降解和调控神经炎症等。然而, 线粒体转移/移植是否影响受体细胞的线粒体稳态尚未在文献中明确描述, 应更加关注线粒体的数量和质量及其对移植过程中线粒体稳态的影响。

线粒体功能障碍是脑缺血发病机制的早期重要因素之一, 恢复线粒体的功能和拯救受损线粒体, 对于治疗缺血性脑损伤具有至关重要的作用, 细胞间线粒体转移可能是治疗 PSCI 的有效靶标。通过加速神经元释放或 AST 吞噬来促进细胞间线粒体转移, 可作为未来治疗缺血性脑卒中的潜在治疗策略。然而很少有研究将线粒体转移与 PSCI 直接联系, 需要进一步的研究来阐述这一过程在脑卒中患者中的安全性、有效性。在未来几年, 研究人员应专注于线粒体移植治疗 PSCI 的潜在治疗应用, 并探索基于线粒体的疗法, 以发挥其最大潜力。

作者贡献：肖雨倩进行文章的构思与撰写，文章的可行性分析；王岩进行文献的检索与收集；陈淑颖、陈丽敏进行文献的分析与整理；孙可心、万俊进行论文修订；白艳杰负责文章的质量控制及审校、监督管理，并对文章整体负责。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] LIM J S, LEE J J, WOO C W. Post-stroke cognitive impairment: pathophysiological insights into brain disconnectome from advanced neuroimaging analysis techniques [J] . J Stroke, 2021, 23 (3) : 297-311. DOI: 10.5853/jos.2021.02376.
- [2] ROST N S, BRODTMANN A, PASE M P, et al. Post-stroke cognitive impairment and dementia [J] . Circ Res, 2022, 130 (8) : 1252-1271. DOI: 10.1161/circresaha.122.319951.
- [3] YANG J L, MUKDA S, CHEN S D. Diverse roles of mitochondria in ischemic stroke [J] . Redox Biol, 2018, 16: 263-275. DOI: 10.1016/j.redox.2018.03.002.
- [4] NORAT P, SOLDOZY S, SOKOLOWSKI J D, et al. Mitochondrial dysfunction in neurological disorders: exploring mitochondrial transplantation [J] . NPJ Regen Med, 2020, 5 (1) : 22. DOI: 10.1038/s41536-020-00107-x.
- [5] LIGHTOWLERS R N, CHRZANOWSKA-LIGHTOWLERS Z M, RUSSELL O M. Mitochondrial transplantation—a possible therapeutic for mitochondrial dysfunction? Mitochondrial transfer is a potential cure for many diseases but proof of efficacy and safety is still lacking [J] . EMBO Rep, 2020, 21 (9) : e50964. DOI: 10.15252/embr.202050964.
- [6] VIGNAIS M L, CAICEDO A, BRONDELLO J M, et al. Cell connections by tunneling nanotubes: effects of mitochondrial trafficking on target cell metabolism, homeostasis, and response to therapy [J] . Stem Cells Int, 2017, 2017: 6917941. DOI: 10.1155/2017/6917941.
- [7] ZHANG S L, KAZANIETZ M G, COOKE M. Rho GTPases and the emerging role of tunneling nanotubes in physiology and disease [J] . Am J Physiol Cell Physiol, 2020, 319 (5) : C877-884. DOI: 10.1152/ajpcell.00351.2020.
- [8] NAHACKA Z, ZOBALOVA R, DUBISOVA M, et al. Miro proteins connect mitochondrial function and intercellular transport [J] . Crit Rev Biochem Mol Biol, 2021, 56 (4) : 401-425. DOI: 10.1080/10409238.2021.1925216.
- [9] PALIWAL S, CHAUDHURI R, AGRAWAL A, et al. Regenerative abilities of mesenchymal stem cells through mitochondrial transfer [J] . J Biomed Sci, 2018, 25 (1) : 31. DOI: 10.1186/s12929-018-0429-1.
- [10] TSENG N, LAMBIE S C, HUYNH C Q, et al. Mitochondrial transfer from mesenchymal stem cells improves neuronal metabolism after oxidant injury in vitro: the role of Miro1 [J] . J Cereb Blood Flow Metab, 2021, 41 (4) : 761-770. DOI: 10.1177/0271678X20928147.
- [11] ROSTAMI J, MOTHE S T, KOLAHDOUZAN M, et al. Crosstalk between astrocytes and microglia results in increased degradation of α -synuclein and amyloid- β aggregates [J] . J Neuroinflammation, 2021, 18 (1) : 124. DOI: 10.1186/s12974-021-02158-3.
- [12] WANG Y, CUI J, SUN X, et al. Tunneling-nanotube development in astrocytes depends on p53 activation [J] . Cell Death Differ, 2011, 18 (4) : 732-742. DOI: 10.1038/cdd.2010.147.
- [13] WANG X, BUKORESHTLIEV N V, GERDES H H. Developing neurons form transient nanotubes facilitating electrical coupling and calcium signaling with distant astrocytes [J] . PLoS One, 2012, 7 (10) : e47429. DOI: 10.1371/journal.pone.0047429.
- [14] YAO Y, FAN X L, JIANG D, et al. Connexin 43-mediated mitochondrial transfer of iPSC-MSCs alleviates asthma inflammation [J] . Stem Cell Reports, 2018, 11 (5) : 1120-1135. DOI: 10.1016/j.stemcr.2018.09.012.
- [15] VARGAS J Y, LORIA F, WU Y J, et al. The Wnt/Ca²⁺ pathway is involved in interneuronal communication mediated by tunneling nanotubes [J] . EMBO J, 2019, 38 (23) : e101230. DOI: 10.15252/emboj.2018101230.
- [16] FENG Y H, ZHU R J, SHEN J, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells rescue endothelial cells experiencing chemotherapy stress by mitochondrial transfer via tunneling nanotubes [J] . Stem Cells Dev, 2019, 28 (10) : 674-682. DOI: 10.1089/scd.2018.0248.
- [17] TISHCHENKO A, AZORÍN D D, VIDAL-BRIME L, et al. Cx43 and associated cell signaling pathways regulate tunneling nanotubes in breast cancer cells [J] . Cancers (Basel), 2020, 12 (10) : 2798. DOI: 10.3390/cancers12102798.
- [18] ZABOROWSKI M P, BALAJ L, BREAKEFIELD X O, et al. Extracellular vesicles: composition, biological relevance, and methods of study [J] . Bioscience, 2015, 65 (8) : 783-797. DOI: 10.1093/biosci/biv084.
- [19] PERUZZOTTI-JAMETTI L, BERNSTOCK J D, WILLIS C M, et al. Neural stem cells traffic functional mitochondria via extracellular vesicles [J] . PLoS Biol, 2021, 19 (4) : e3001166. DOI: 10.1371/journal.pbio.3001166.
- [20] VARCHIANN A, MYSZCZYNSKA M A, CASTELLI L M, et al. Micro-RNAs secreted through astrocyte-derived extracellular vesicles cause neuronal network degeneration in C9orf72 ALS [J] . EBioMedicine, 2019, 40: 626-635. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.11.067.
- [21] D'ACUNZO P, PÉREZ-GONZÁLEZ R, KIM Y, et al. Mitovesicles are a novel population of extracellular vesicles of mitochondrial origin altered in Down syndrome [J] . Sci Adv, 2021, 7 (7) : eabe5085. DOI: 10.1126/sciadv.abe5085.
- [22] LU T Y, ZHANG J B, CAI J Y, et al. Extracellular vesicles derived from mesenchymal stromal cells as nanotherapeutics for liver ischaemia-reperfusion injury by transferring mitochondria to modulate the formation of neutrophil extracellular traps [J] . Biomaterials, 2022, 284: 121486. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2022.121486.

- [23] MOON G J, SUNG J H, KIM D H, et al. Application of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for stroke: biodistribution and microRNA study [J]. *Transl Stroke Res*, 2019, 10 (5): 509–521. DOI: 10.1007/s12975-018-0668-1.
- [24] DAVE K M, STOLZ D B, VENNA V R, et al. Mitochondria-containing extracellular vesicles (EV) reduce mouse brain infarct sizes and EV/HSP27 protect ischemic brain endothelial cultures [J]. *J Control Release*, 2023, 354: 368–393. DOI: 10.1016/j.jconrel.2023.01.025.
- [25] PARK J H, NAKAMURA Y, LI W L, et al. Effects of O-GlcNAcylation on functional mitochondrial transfer from astrocytes [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41 (7): 1523–1535. DOI: 10.1177/0271678X20969588.
- [26] ZOROVA L D, KOVALCHUK S I, POPKOV V A, et al. Do extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells contain functional mitochondria? [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (13): 7408. DOI: 10.3390/ijms23137408.
- [27] BELL C L, SHAKESPEARE T I, SMITH A R, et al. Visualization of annular gap junction vesicle processing: the interplay between annular gap junctions and mitochondria [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20 (1): 44. DOI: 10.3390/ijms20010044.
- [28] LI H, WANG C, HE T, et al. Mitochondrial transfer from bone marrow mesenchymal stem cells to motor neurons in spinal cord injury rats via gap junction [J]. *Theranostics*, 2019, 9 (7): 2017–2035. DOI: 10.7150/thno.29400.
- [29] WHISENANT C C, SHAW R M. Internal translation of Gja1 (Connexin43) to produce GJA1-20k: implications for arrhythmia and ischemic-preconditioning [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 1058954. DOI: 10.3389/fphys.2022.1058954.
- [30] FU Y, ZHANG S S, XIAO S H, et al. Cx43 isoform GJA1-20k promotes microtubule dependent mitochondrial transport [J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 905. DOI: 10.3389/fphys.2017.00905.
- [31] REN D B, ZHENG P, ZOU S F, et al. GJA1-20K enhances mitochondria transfer from astrocytes to neurons via Cx43-TnTs after traumatic brain injury [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2022, 42 (6): 1887–1895. DOI: 10.1007/s10571-021-01070-x.
- [32] XIAO S H, SHIMURA D, BAUM R, et al. Auxiliary trafficking subunit GJA1-20k protects connexin-43 from degradation and limits ventricular arrhythmias [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130 (9): 4858–4870. DOI: 10.1172/JCI134682.
- [33] WADA K I, HOSOKAWA K, ITO Y, et al. Quantitative control of mitochondria transfer between live single cells using a microfluidic device [J]. *Biol Open*, 2017, 6 (12): 1960–1965. DOI: 10.1242/bio.024869.
- [34] MOHAMMADALIPOUR A, DUMBALI S P, WENZEL P L. Mitochondrial transfer and regulators of mesenchymal stromal cell function and therapeutic efficacy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 603292. DOI: 10.3389/fcell.2020.603292.
- [35] NYGREN J M, LIUBA K, BREITBACH M, et al. Myeloid and lymphoid contribution to non-haematopoietic lineages through irradiation-induced heterotypic cell fusion [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10 (5): 584–592. DOI: 10.1038/ncb1721.
- [36] MAEDA A, FADEEL B. Mitochondria released by cells undergoing TNF- α -induced necroptosis act as danger signals [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5 (7): e1312. DOI: 10.1038/cddis.2014.277.
- [37] BOUDREAU L H, DUCHEZ A C, CLOUTIER N, et al. Platelets release mitochondria serving as substrate for bactericidal group IIA-secreted phospholipase A2 to promote inflammation [J]. *Blood*, 2014, 124 (14): 2173–2183. DOI: 10.1182/blood-2014-05-573543.
- [38] ENGLISH K, SHEPHERD A, UZOR N E, et al. Astrocytes rescue neuronal health after cisplatin treatment through mitochondrial transfer [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2020, 8 (1): 36. DOI: 10.1186/s40478-020-00897-7.
- [39] LIU Z H, SUN Y, QI Z T, et al. Mitochondrial transfer/transplantation: an emerging therapeutic approach for multiple diseases [J]. *Cell Biosci*, 2022, 12 (1): 66. DOI: 10.1186/s13578-022-00805-7.
- [40] GAO J J, QIN A, LIU D L, et al. Endoplasmic reticulum mediates mitochondrial transfer within the osteocyte dendritic network [J]. *Sci Adv*, 2019, 5 (11): eaaw7215. DOI: 10.1126/sciadv.aaw7215.
- [41] HAYAKAWA K, ESPOSITO E, WANG X H, et al. Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke [J]. *Nature*, 2016, 535 (7613): 551–555. DOI: 10.1038/nature18928.
- [42] LIU K M, GUO L, ZHOU Z J, et al. Mesenchymal stem cells transfer mitochondria into cerebral microvasculature and promote recovery from ischemic stroke [J]. *Microvasc Res*, 2019, 123: 74–80. DOI: 10.1016/j.mvr.2019.01.001.
- [43] DAVIS C H, KIM K Y, BUSHONG E A, et al. Transcellular degradation of axonal mitochondria [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111 (26): 9633–9638. DOI: 10.1073/pnas.1404651111.
- [44] HAN S, JEONG Y Y, SHESHADRI P, et al. Mitophagy regulates integrity of mitochondria at synapses and is critical for synaptic maintenance [J]. *EMBO Rep*, 2020, 21 (9): e49801. DOI: 10.15252/embr.201949801.
- [45] ROBINSON J L, MOLINA-PORCEL L, CORRADA M M, et al. Perforant path synaptic loss correlates with cognitive impairment and Alzheimer's disease in the oldest-old [J]. *Brain*, 2014, 137 (Pt 9): 2578–2587. DOI: 10.1093/brain/awu190.
- [46] KASHYAP G, BAPAT D, DAS D, et al. Synapse loss and progress of Alzheimer's disease—a network model [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 6555. DOI: 10.1038/s41598-019-43076-y.
- [47] LAMPINEN R, BELAYA I, SAVELEVA L, et al. Neuron-astrocyte transmitophagy is altered in Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2022, 170: 105753. DOI: 10.1016/j.nbd.2022.105753.
- [48] SHARMA M, RAMÍREZ JARQUÍN U N, RIVERA O, et al. Rhes, a striatal-enriched protein, promotes mitophagy via nix [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116 (47): 23760–23771. DOI: 10.1073/pnas.1912868116.
- [49] LI Q, ZHANG T, WANG J X, et al. Rapamycin attenuates

- mitochondrial dysfunction via activation of mitophagy in experimental ischemic stroke [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 444 (2): 182–188. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.01.032.
- [50] YU S S, ZHENG S F, LENG J, et al. Inhibition of mitochondrial calcium uniporter protects neurocytes from ischemia/reperfusion injury via the inhibition of excessive mitophagy [J]. *Neurosci Lett*, 2016, 628: 24–29. DOI: 10.1016/j.neulet.2016.06.012.
- [51] SCHEIBLICH H, DANSOKHO C, MERCAN D, et al. Microglia jointly degrade fibrillar alpha-synuclein cargo by distribution through tunneling nanotubes [J]. *Cell*, 2021, 184 (20): 5089–5106. e21. DOI: 10.1016/j.cell.2021.09.007.
- [52] HASAN-OLIVE M M, ENGER, HANSSON H A, et al. Pathological mitochondria in neurons and perivascular astrocytic endfeet of idiopathic normal pressure hydrocephalus patients [J]. *Fluids Barriers CNS*, 2019, 16 (1): 39. DOI: 10.1186/s12987-019-0160-7.
- [53] MO Y, SUN Y Y, LIU K Y. Autophagy and inflammation in ischemic stroke [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15 (8): 1388–1396. DOI: 10.4103/1673-5374.274331.
- [54] JAYARAJ R L, AZIMULLAH S, BEIRAM R, et al. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16 (1): 142. DOI: 10.1186/s12974-019-1516-2.
- [55] YAN C Y, MA Z, MA H L, et al. Mitochondrial transplantation attenuates brain dysfunction in Sepsis by driving microglial M2 polarization [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57 (9): 3875–3890. DOI: 10.1007/s12035-020-01994-3.
- [56] 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. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.11.005.
- [57] MAHROUF-YORGOV M, AUGEUL L, DA SILVA C C, et al. Mesenchymal stem cells sense mitochondria released from damaged cells as danger signals to activate their rescue properties [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24 (7): 1224–1238. DOI: 10.1038/cdd.2017.51.
- [58] GUO S Z, DENG W J, XING C H, et al. Effects of aging, hypertension and diabetes on the mouse brain and heart vasculomes [J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 126: 117–123. DOI: 10.1016/j.nbd.2018.07.021.
- [59] WEBB R L, KAISER E E, SCOVILLE S L, et al. Human neural stem cell extracellular vesicles improve tissue and functional recovery in the murine thromboembolic stroke model [J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9 (5): 530–539. DOI: 10.1007/s12975-017-0599-2.
- [60] JUNG J E, SUN G, BAUTISTA GARRIDO J, et al. The mitochondria-derived peptide humanin improves recovery from intracerebral hemorrhage: implication of mitochondria transfer and microglia phenotype change [J]. *J Neurosci*, 2020, 40 (10): 2154–2165. DOI: 10.1523/jneurosci.2212-19.2020.
- [61] JOSHI A U, MINHAS P S, LIDDELOW S A, et al. Fragmented mitochondria released from microglia trigger A1 astrocytic response and propagate inflammatory neurodegeneration [J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22 (10): 1635–1648. DOI: 10.1038/s41593-019-0486-0.
- [62] HOSSEINI L, KARIMIPOUR M, SEYEDAGHAMIRI F, et al. Intranasal administration of mitochondria alleviated cognitive impairments and mitochondrial dysfunction in the photothrombotic model of mPFC stroke in mice [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2022, 31 (12): 106801. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2022.106801.
- [63] TASHIRO R, BAUTISTA-GARRIDO J, OZAKI D, et al. Transplantation of astrocytic mitochondria modulates neuronal antioxidant defense and neuroplasticity and promotes functional recovery after intracerebral hemorrhage [J]. *J Neurosci*, 2022, 42 (36): 7001–7014. DOI: 10.1523/jneurosci.2222-21.2022.
- [64] ZHAO J, QU D, XI Z, et al. Mitochondria transplantation protects traumatic brain injury via promoting neuronal survival and astrocytic BDNF [J]. *Transl Res*, 2021, 235: 102–114. DOI: 10.1016/j.trsl.2021.03.017.
- [65] ZHAN Z, MA Z, YAN C, et al. Muscle-derived autologous mitochondrial transplantation: a novel strategy for treating cerebral ischemic injury [J]. *Behav Brain Res*, 2019, 356: 322–331. DOI: 10.1016/j.bbr.2018.09.005.
- [66] ROBICSEK O, ENE H M, KARRY R, et al. Isolated mitochondria transfer improves neuronal differentiation of schizophrenia-derived induced pluripotent stem cells and rescues deficits in a rat model of the disorder [J]. *Schizophr Bull*, 2018, 44 (2): 432–442. DOI: 10.1093/schbul/sbx077.
- [67] HUANG P J, KUO C C, LEE H C, et al. Transferring xenogenic mitochondria provides neural protection against ischemic stress in ischemic rat brains [J]. *Cell Transplant*, 2016, 25 (5): 913–927. DOI: 10.3727/096368915X689785.
- [68] ZHANG Z F, ZOU X X, ZHANG R, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-146a-5p reduces microglial-mediated neuroinflammation via suppression of the IRAK1/TRAF6 signaling pathway after ischemic stroke [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13 (2): 3060–3079. DOI: 10.18632/aging.202466.
- [69] FENG B, MENG L, LUAN L M, et al. Upregulation of extracellular vesicles-encapsulated miR-132 released from mesenchymal stem cells attenuates ischemic neuronal injury by inhibiting Smad2/c-Jun pathway via Acvr2b suppression [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 568304. DOI: 10.3389/fcell.2020.568304.
- [70] COURT A C, LE-GATT A, LUZ-CRAWFORD P, et al. Mitochondrial transfer from MSCs to T cells induces Treg differentiation and restricts inflammatory response [J]. *EMBO Rep*, 2020, 21 (2): e48052. DOI: 10.15252/embr.201948052.
- [71] MARINO B L B, DE SOUZA L R, SOUSA K P A, et al. Parkinson's disease: a review from pathophysiology to treatment [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2020, 20 (9): 754–767. DOI: 10.2174/1389557519666191104110908.

(收稿日期: 2023-02-25; 修回日期: 2023-04-10)

(本文编辑: 毛亚敏)