

石瑾,吕玥,徐婷,等.抑制线粒体内膜蛋白 OMA1 对 Rot 诱导帕金森病细胞模型凋亡的影响 [J].中国比较医学杂志,2023,33(11):48-54.

Shi J, Lyu Y, Xu T, et al. Effect of inhibiting the mitochondrial inner membrane protein OMA1 on apoptosis in a Rot-induced Parkinson's disease cell model [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(11): 48-54.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.11.007

抑制线粒体内膜蛋白 OMA1 对 Rot 诱导帕金森病细胞模型凋亡的影响

石瑾¹,吕玥¹,徐婷²,宣婷婷¹,杨娟¹,杜丹丹¹,张俊梅¹,李海宁^{1*}

(1.宁夏医科大学总医院神经内科,银川 750004;
2.宁夏医科大学总医院心脑血管病医院神经电生理科,银川 750004)

【摘要】 目的 探究抑制线粒体内膜蛋白 OMA1(overlapping activity with m-AAA protease,OMA1)对鱼藤酮(rotenone,Rot)诱导的人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y)凋亡的影响。**方法** 体外培养 SH-SY5Y 细胞,使用 Rot(终浓度为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 μmol/L)处理 SH-SY5Y 细胞 24 h,选择最佳浓度的 Rot(0.2 μmol/L)开展后续实验。实验分为对照组(细胞不经特殊处理)、PD 模型组(0.2 μmol/L 的 Rot 处理细胞 24 h)、空载转染组(正常对照组基础上转染 OMA1 siRNA 的阴性对照序列)、OMA1 siRNA 组(0.2 μmol/L 的 Rot 处理细胞 24 h 后转染 OMA1 siRNA)。CCK-8 检测细胞生存率、倒置相差显微镜观察各组细胞形态学、Western blot 检测 OMA1 及凋亡相关蛋白 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达的变化、TUNEL 凋亡试剂盒检测细胞凋亡。**结果** 与对照组相比,随着 Rot 浓度的升高,SH-SY5Y 细胞生存率呈浓度依赖性降低($P<0.05$);与对照组相比,PD 模型组中 OMA1 的表达及凋亡蛋白 Caspase-3 表达升高,Bax/Bcl-2 值升高($P<0.01$);与 PD 模型组相比,OMA1 siRNA 组细胞形态学变化逐渐恢复、凋亡蛋白 Caspase-3 表达降低,Bax/Bcl-2 值降低,TUNEL 凋亡染色提示凋亡减轻($P<0.01$)。**结论** 抑制线粒体内膜蛋白 OMA1 可以改善 Rot 诱导的 PD 细胞模型引起的凋亡,对神经元可能具有保护作用。

【关键词】 线粒体内膜蛋白 OMA1;帕金森病;鱼藤酮;SH-SY5Y;细胞凋亡

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 11-0048-07

Effect of inhibiting the mitochondrial inner membrane protein OMA1 on apoptosis in a Rot-induced Parkinson's disease cell model

SHI Jin¹, LYU Yue¹, XU Ting², XUAN Tingting¹, YANG Juan¹, DU Dandan¹, ZHANG Junmei¹, LI Haining^{1*}

(1. Department of Neurology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China.

2. Department of Nerve Electrophysiology, Cardiovascular and Cerebrovascular Disease Hospital,
General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of inhibiting the mitochondrial inner membrane protein OMA1 on rotenone (Rot)-Induced apoptosis in a Parkinson's disease (PD) cell model. **Methods** SH-SY5Y cells were cultured *in vitro*, treated with Rot (final concentration of 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 or 0.4 μmol/L) for 24 h, and the best Rot concentration (0.2 μmol/L) was selected for subsequent experiments. The cells were divided into a control group (without

[基金项目]宁夏自然科学基金(2022AAC03561);2020 年度宁夏留学人员创新创业项目;宁夏医科大学校级科研项目(LNKF202101, XM2022025)。

[作者简介]石瑾(1989—),女,硕士研究生,研究方向:运动障碍性疾病。E-mail:270645795@qq.com

[通信作者]李海宁(1976—),女,副教授,研究方向:运动障碍性疾病。E-mail:lhnnwww@126.com

special treatment), PD model group (0.2 $\mu\text{mol/L}$ Rot treatment for 24 h), negative control group (control group which was transfected with OMA1 negative sequence), and OMA1 siRNA group (0.2 $\mu\text{mol/L}$ Rot treatment for 24 h and transfection with OMA1 siRNA). CCK-8 was used to detect cell survival rate, and an inverted phase-contrast microscope was used to observe cell morphology in each group. Western blot was used to detect changes in the expression of OMA1 and the apoptosis-related proteins Caspase-3, Bax and Bcl-2, and a TUNEL apoptosis kit was used to detect cell apoptosis.

Results Compared with the control group, the survival rate of SH-SY5Y cells decreased in a concentration-dependent manner with increasing Rot concentration ($P<0.05$). Compared with the control group, the PD model group's expression of OMA1 and the apoptotic protein Caspase-3 and the ratio of Bax/Bcl-2 were increased ($P<0.01$). Compared with in the PD model group, in the OMA1 siRNA group cells, morphological changes gradually restored, apoptotic protein Caspase-3 expression decreased, Bax/Bcl-2 increased, and TUNEL apoptosis staining suggested reduced apoptosis ($P<0.01$).

Conclusions Inhibition of the mitochondrial inner membrane protein OMA1 ameliorated the apoptosis induced in the Rot-treated PD cell model, and in turn, may have a protective effect on neurons.

[Keywords] mitochondrial inner membrane protein OMA1; Parkinson's disease; rotenone; SH-SY5Y; apoptosis

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种慢性不可治愈的神经退行性疾病,主要影响老年人,就患病率而言,PD 在世界上排名第二^[1]。PD 具有广泛的表型和有限的治疗^[2]。PD 患者出现运动症状及非运动症状时其体内多巴胺能神经元通常消失 50%~80%^[3-4]。PD 目前是无法治愈的,有限的可用于临床干预的措施只能提供症状缓解。目前导致 PD 的确切原因仍有待探索,相关研究显示,线粒体功能障碍是 PD 的主要发病机制^[5]。线粒体动力学缺陷导致线粒体功能障碍,并与神经退行性疾病有关^[6-7]。

近年来,OMA1(overlapping activity with m-AAA protease, OMA1)作为一种用于调节线粒体动力学的内膜蛋白逐渐受到重视。OMA1 在生理状态下活性很低,但当线粒体应激时被迅速激活,过度活跃的 OMA1 是致病性的^[8-9],其可过度激活视神经萎缩蛋白 1(optic atrophy protein 1, OPA1),导致 L-OPA1(长形式)裂解增强, S-OPA1(短形式)释放增加,过量的 S-OPA1 可通过其成膜特性提高 Bax/Bak1 活化后的外膜通透性并促进细胞色素 c 的释放,促进线粒体的分裂和神经元的凋亡^[10]。另外,相关研究报道称基因消融 OMA1 可防止 OPA1 裂解,延迟小鼠神经退化模型中的神经元凋亡^[11]。OMA1 通过激活 L-OPA1 亚型从而抑制线粒体融合而诱发凋亡。OMA1 在肿瘤方面的研究较多^[12],但是 OMA1 在 PD 中的研究有限,因此,研究设想抑制 OMA1 可能通过抑制细胞凋亡从而为以线粒体功能障碍为主要发病机制的 PD 疾病提高新的治疗靶点。本研究使用 Rot 诱导人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 建立体外 PD 细胞模型,旨在研究 PD 细胞模

型上 OMA1 的表达水平及抑制 OMA1 的表达对 PD 细胞模型凋亡的影响,为帕金森病的治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 细胞

人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 细胞系购自武汉普诺赛生命科技有限公司(货号:CL-0208),细胞实验经宁夏医科大学总医院医学科研伦理审查委员会审核批准(KYLL-2022-0135)。

1.2 主要试剂与仪器

TUNEL 凋亡检测试剂盒(货号:KGA7073)、全蛋白提取试剂盒(货号:KGP250)、BCA 蛋白含量检测试剂盒(货号:KGPBCA)、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(货号:KGP113)均购自江苏凯基生物公司;CCK-8 试剂盒(货号:C6005)购自苏州新赛美生物科技有限公司;MEM/F12 培养基(货号:PM151220)购自武汉普诺赛生命科技有限公司;DNA RNA Transfection Reagent(货号:IV1216050)购自美国 Invitrogen 公司;EDTA 含酚红胰酶胰酶(货号:T1320)购自北京索莱宝科技有限公司、胎牛血清(FBS)(货号:04-001-1ACS)购自以色列 Biological Industries 公司;鱼藤酮(Rotenone)(货号:HY-B1756-1)购自美国 MCE 公司;GAPDH Ab(货号:AF7021-30)购自江苏 Affity 公司;Anti-OMA1(货号:ab154949)、Anti-caspase-3(货号:ab32351-10 μL)、Anti-Bax(货号:ab32503)、Anti-Bcl-2(货号:ab32124)抗体均购自英国 Abcam 公司;山羊抗兔二抗 IgG-HRP 购自北京中杉金桥生物技术有限公司;OMA1 siRNA 合成序列由上海汉恒生物科技有限公

司合成及提供。细胞培养箱(型号:HF-90;Heal Force 公司);生物安全柜(型号:HFSAFE-1200;NUAIRE 公司);倒置显微镜(型号:CX51;OLYMPUS 公司);倒置荧光生物显微镜(型号:AXIO OBSERVER A1;AxioCam MRc5 公司);Western blot 制胶设备(型号:mx1731;北京六一仪器公司);多色荧光凝胶成像系统(型号:CHEMI DOC MP;BioRad 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 SH-SY5Y 细胞培养及传代

从液氮罐中将冻存的 SH-SY5Y 细胞取出,迅速移至提前预热的 37℃ 水浴锅中,使其快速融化。将细胞悬液吸至含有配制好的完全培养基(89% MEM/F12+10% FBS +1% 双抗)的 15 mL 离心管中,1000 r/min 离心 5 min,弃上清,加入提前配制好的培养基吹打混匀,将细胞悬液吸至含有 4 mL 完全培养基的 60 mm 培养皿中充分混匀,然后置于 5% CO₂、37℃ 的培养箱中培养,每 2 d 换液 1 次。当细胞密度达 80% 左右时予以胰酶消化,按 1:2 进行传代。

1.3.2 CCK-8 法筛选出最佳 Rot 处理浓度

将 SH-SY5Y 细胞用胰酶消化后按 100 μL 中含细胞数 2×10⁴ 个接种于 96 孔板中,贴壁培养 24 h 后,加入用完全培养基稀释好不同浓度的 Rot (0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 μmol/L)轻轻混匀后继续放入培养箱中培养 24 h 后,每孔加入 100 μL 配制好的 CCK-8 溶液(MEM/F12 90 μL+CCK-8 10 μL),继续放入培养箱中培养 2 h,酶标仪检测 OD₄₅₀ 进行数据统计分析。实验重复 3 次。

1.3.3 实验分组、处理及 OMA1 siRNA 转染

实验分为对照(control)组(细胞不经特殊处理)、PD 模型(PD model)组(0.2 μmol/L 的 Rot 处理细胞 24 h)、空载转染(negative control)组(正常对照组基础上转染 OMA1-siRNA 的阴性对照序列)和 OMA1 siRNA 组(0.2 μmol/L 的 Rot 处理细胞 24 h 后转染 OMA1 siRNA)。

PD 细胞构建成功后,进行 siRNA 的转染,参照 Invigentech INVI DNA RNA 转染说明书,将不同序列 siRNA 各 15 μL 与转染试剂 Invigentech INVI DNA RNA 15 μL 混合,室温静置 10~15 min 后转染至构建好的 PD 细胞模型上 24 h,采用 Western blot 检测最佳 OMA1 沉默序列。实验重复 3 次。

1.3.4 TUNEL 染色检测细胞凋亡

12 孔板中接种各处理组细胞,实验分组及处理

同 1.3.3,将不同处理组的细胞固定;1% TritonX-100 通透液处理 5 min;在阳性片上滴加配制好的 DNaseI 反应液(DNaseI 30 μL + DNaseI Buffer 70 μL),37℃ 处理 30 min;滴加 TdT 酶反应液,37℃ 避光 60 min,洗涤;滴加 Streptavidin-Fluorescein 标记液,再在 37℃ 避光 30 min,洗涤;DAPI 复染细胞核,再次洗涤;荧光显微镜下观察并拍照(激发波长 450~500 nm,发射波长 515~565 nm)。实验重复 3 次。

1.3.5 Western blot 检测 OMA1、Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 蛋白表达

各个实验处理组提取总蛋白,采取 BCA 法进行蛋白浓度的测定,统一各组蛋白浓度为 2 μg/μL,100℃ 金属浴中处理蛋白 5 min,使蛋白变性,上样量为 30 μg,选取 10% SDS-PAGE 分离胶、5% 浓缩胶进行电泳,转膜至 PVDF 膜上,用 5% 脱脂牛奶于室温下封闭 1.5 h;加入对应的一抗 OMA1(1:1000)、Caspase-3(1:5000)、Bax(1:5000)、Bcl-2(1:1000)、GAPDH(1:10 000)于 4℃ 孵育过夜;然后用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,分别加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(1:10 000),室温孵育 1 h,再次 TBST 洗膜 3 次,配制 ECL 发光液后,将目的条带置于凝胶成像仪中,进行曝光和显影。使用 Image J 软件对蛋白质相对表达量进行分析。

1.4 统计学方法

实验数据均为计量资料,结果以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)示,应用 GraphPad Prism 8.0 统计学软件进行数据分析,方差齐时,采用单因素方差分析, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CCK-8 筛选出最佳 Rot 浓度

如表 1 所示,以对照组细胞存活率为 100% 计算,随着 Rot 作用 SH-SY5Y 细胞浓度逐渐增加

表 1 不同浓度 Rot 对 SH-SY5Y 细胞存活率的影响

Table 1 Effect of different concentrations of Rot on the survival rate of SH-SY5Y cells

组别		细胞存活率(%)
Groups		Cell survival rate
鱼藤酮组 Rot group	对照组 Control group	100.00±0.00
	0.05 μmol/L	80.70±0.61 *
	0.1 μmol/L	62.30±0.39 *
	0.2 μmol/L	50.00±1.01 *
	0.3 μmol/L	41.00±0.71 *
	0.4 μmol/L	30.12±0.31 *

注:与对照组相比, * $P<0.05$ 。
Note. Compare with the control group, * $P<0.05$.

(0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 μmol/L), SH-SY5Y 细胞生存率呈浓度依赖性降低 ($P<0.05$)。由于在 Rot 作用浓度为 0.2 μmol/L 时,细胞存活率为 $(50.00\pm 1.01)\%$ 。因此将 0.2 μmol/L Rot 浓度设为后续实验造模最佳浓度。

2.2 不同浓度 Rot 诱导 SH-SY5Y 细胞中 OMA1 及凋亡相关蛋白的表达

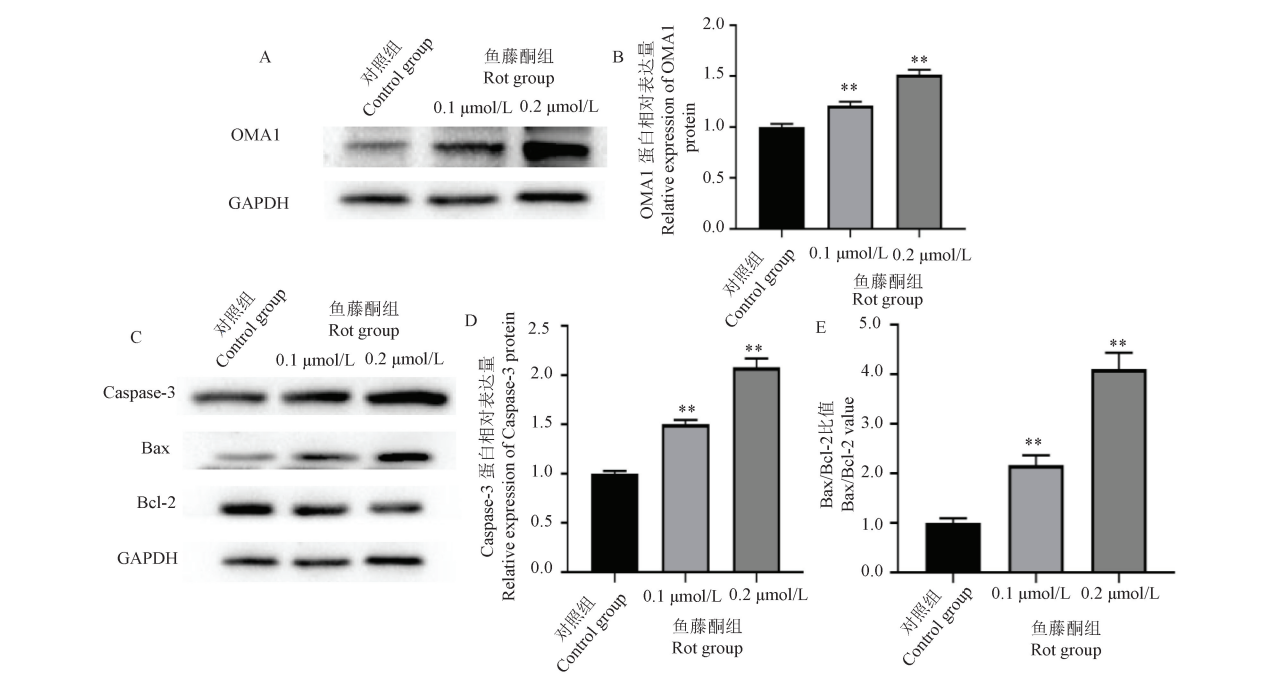
如图 1A、1B 所示,与对照组相比,0.1 μmol/L 和 0.2 μmol/L Rot 诱导 SH-SY5Y 细胞构建的 PD 细胞模型中 OMA1 蛋白表达水平逐渐升高 ($P<0.01$)。如图 1C~1E 所示,与对照组相比,0.1 μmol/L 和 0.2 μmol/L Rot 组 Caspase-3 表达明显升

高,Bax/Bcl-2 值明显升高 ($P<0.01$)。提示随着鱼藤酮浓度的升高,PD 细胞模型中 OMA1 表达升高,凋亡蛋白的表达逐渐升高,抗凋亡蛋白的表达逐渐降低。

2.3 抑制 OMA1 对 PD 细胞模型凋亡的影响

2.3.1 抑制 OMA1 对细胞形态的影响

如图 2 所示,未分化 SH-SY5Y 细胞大小均一、细胞突起明显、呈梭形及多边形;给予 Rot 处理后形成 PD 细胞模型,其细胞形态改变、胞体变圆、突触缩短甚至消失;与 PD 细胞模型组相比,OMA1 siRNA 组细胞形态逐渐恢复、突触逐渐恢复,细胞存活率升高。



注:A:用 Western blot 对不同组的代表性蛋白 OMA1 图像进行分析;B:各组 OMA1 蛋白表达的定量分析;C:用 Western blot 对不同组的代表性蛋白 Caspase-3、Bax、Bcl-2 图像进行分析;D:各组 Caspase-3 蛋白表达的定量分析;E:各组 Bax/Bcl-2 蛋白表达定量的比值分析。与对照组相比, ** $P<0.01$ 。

图 1 不同浓度 Rot 诱导 SH-SY5Y 细胞中 OMA1 及凋亡相关蛋白表达影响

Note. A, Representative protein of OMA1 image by Western blot in different groups. B, Quantitative analysis of OMA1 protein expression in each group. C, Representative protein of Caspase-3, Bax, Bcl-2 images by Western blot in different groups. D, Quantitative analysis of Caspase-3 protein expression in each groups. E, Quantitative analysis of Bax/Bcl-2 protein ratio expression in each groups. Compared with control group, ** $P<0.01$.

Figure 1 Effect of OMA1 and apoptosis-related protein expression in SH-SY5Y cells induced by different concentrations of Rot

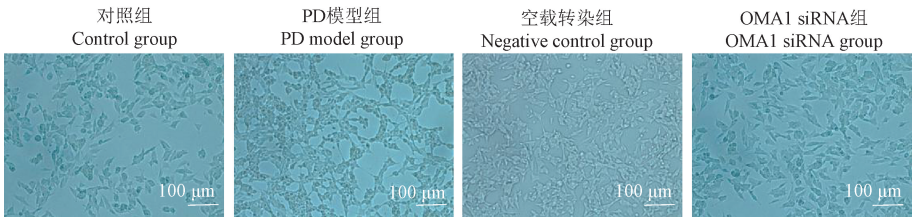
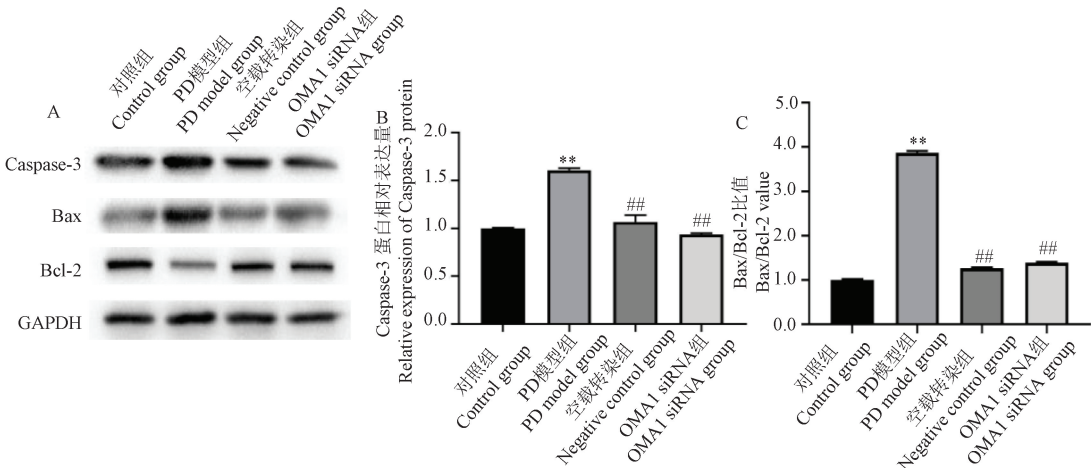


图 2 抑制 OMA1 对 Rot 诱导 SH-SY5Y 细胞形态学变化

Figure 2 Morphological changes of Rot-induced SH-SY5Y cells byinhibition of OMA1

2.3.2 抑制 OMA1 对 PD 细胞模型凋亡相关蛋白表达水平的影响

如图 3 所示,与 PD 模型组相比,OMA1 siRNA 组中凋亡蛋白 Caspase-3 表达水平降低($P<0.01$), Bax/Bcl-2 值明显降低($P<0.01$)。提示抑制 OMA1 的表达后,可以减轻 PD 细胞模型上调亡蛋白的表达,升高抗凋亡蛋白的表达。

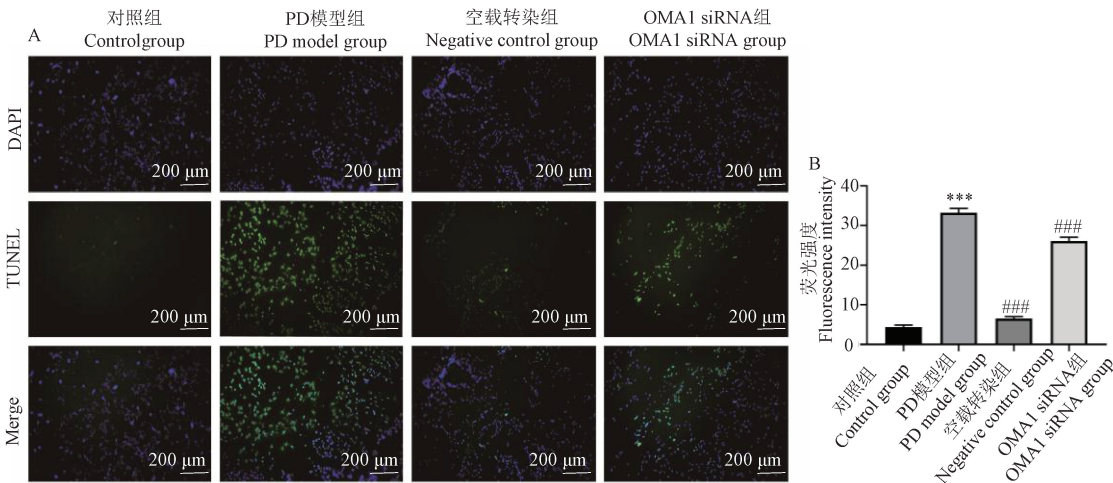


注:A:用 Western blot 对不同组的代表性蛋白 Caspase-3、Bax、Bcl-2 图像进行分析;B:各组 Caspase-3 蛋白表达的定量分析;C:各组 Bax/Bcl-2 蛋白表达定量的比值分析。与对照组比较, ** $P<0.01$;与 PD 模型组比较, ## $P<0.01$ 。

图 3 抑制 OMA1 在 Rot 诱导 SH-SY5Y 细胞中凋亡相关蛋白表达影响

Note. A, Representative protein of Caspase-3, Bax, Bcl-2 images by Western blot in different groups. B, Quantitative analysis of Caspase-3 protein expression in each groups. C, Quantitative analysis of Bax/Bcl-2 protein ratio expression in each groups. Compared with control group, ** $P<0.01$. Compared with PD model group, ## $P<0.01$

Figure 3 Effect of inhibition of OMA1 in Rot-induced apoptosis-related protein expression in SH-SY5Y cells



注:A:TUNEL 染色检测各组凋亡荧光强度,TUNEL;绿色荧光标记凋亡细胞;DAPI;蓝色荧光标记细胞核;Merge;TUNEL 与 DAPI 合成图;B:各组荧光表达相对量。与对照组比较, *** $P<0.001$;与 PD 模型组比较, ### $P<0.001$ 。

图 4 抑制 OMA1 对 PD 细胞模型凋亡 TUNEL 染色

Note. A, TUNEL staining to detect the fluorescence intensity of apoptosis in each group, TUNEL, Green fluorescent labeling of apoptotic cells. DAPI, Blue fluorescent labeling of cell nuclei. Merge, TUNEL and DAPI synthesis chart. B, Relative amount of fluorescence expression in each group. Compared with control group, *** $P<0.001$. Compared with PD model group, ### $P<0.001$.

Figure 4 Inhibition of OMA1 on apoptosis TUNEL staining in PD cell models

3 讨论

PD 致病的常见原因有黑质多巴胺能神经元的变性^[13]、线粒体功能障碍、氧化应激^[14]等。Polito 等^[15]报道,遗传和环境因素对 PD 的影响非常重要。PD 与各种内源性和外源性毒素^[16]有关,这些毒素经常被用于建立 PD 的疾病模型。Rot 是一种线粒体电子传递链复合物 I 的抑制剂,具有明显的神经毒性,也具有高度亲脂性,容易越过血脑屏障,能够造成多巴胺神经元 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn) 聚集^[17],并且导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)的过度生成,引起多巴胺能神经元的氧化应激^[18],是模拟 PD 病理常用的神经毒性分子^[19]。因此本研究选用 Rot 作为化学诱导剂构建体外 PD 细胞模型,并通过调节细胞凋亡为线粒体功能障碍性疾病 PD 提供新的治疗靶点。

线粒体是细胞的能量工厂,同时也是诱导细胞死亡通路激活的重要结构。线粒体的融合由 OPA1、Mfn1、Mfn2 调控,分裂则由 Drp1、Fis1 和 EndoG 调节^[20],在应激条件下,线粒体融合允许功能性线粒体内容物与受损线粒体的代偿性混合,从而减轻急性损伤。因此,融合中断会加剧急性损伤,导致不可逆转的呼吸能力丧失和随后的细胞死亡。OPA1 为线粒体形状改变和细胞生存的调控中心。OPA1 的缺失损害了线粒体融合,干扰了嵴的形态发生,并增加了细胞的凋亡敏感性^[21]。线粒体内膜蛋白 OMA1 和 i-AAA 蛋白酶 YME1L 分别在 S1 和 S2 裂解 OPA1^[22]。虽然 YME1L 对 OPA1 的加工处于代谢控制之下^[23],但 OMA1 在各种压力应激下被激活,导致 L-OPA1 的完全降解和线粒体断裂^[24-25]。此外,培养细胞中 OMA1 的缺失被发现可以防止细胞凋亡^[26-27]。相反,过度活跃的 OMA1 是致病性的^[8,11,28],可能通过破坏 OPA1 介导的线粒体融合导致疾病发生。有趣的是,缺乏 OMA1 的小鼠表现出免受神经变性^[11]、肾缺血^[27]和心力衰竭^[8]的保护,这强烈表明 OMA1 是有希望的治疗靶标。然而,OMA1 处理应激诱导的 OPA1 在体内普遍相关,但其在 PD 发病中对凋亡相关的影响报道有限。

为探究抑制 OMA1 在 Rot 诱导 SH-SY5Y 细胞构建的体外 PD 细胞模型中的表达及对凋亡的影响。用不同浓度 Rot 诱导 SH-SY5Y 细胞构建体外 PD 细胞模型,随着 Rot 浓度的升高,OMA1 活性被

激活,OMA1 蛋白的表达也逐渐升高,且凋亡蛋白表达升高,抗凋亡蛋白表达降低,实验中凋亡蛋白的表达结果与在 PD 患者脑组织的检查显示相符,PD 患者脑组织的检查结果显示黑质致密部活性 Caspase-3 和 Bax 水平升高^[29-31]。接下来设想,在 PD 细胞模型上 OMA1 的活性是增高的,其表达也是增加的,且凋亡蛋白的表达也是增高的,那么如果抑制 OMA1 的表达后,对 PD 细胞模型的凋亡是否具有抑制作用吗?在 PD 细胞模型基础上抑制 OMA1 的表达,首先在形态学上就可以观察到,与 PD 模型组相比,抑制 OMA1 后细胞存活率明显升高,形态恢复、数量增多,随后通过 Western blot 检测到抑制 OMA1 的表达后凋亡蛋白表达降低,抗凋亡蛋白表达升高,TUNEL 染色发现抑制 OMA1 凋亡的荧光染色与 PD 模型组相比减少。

综上所述,本研究发现在 PD 细胞模型基础上抑制 OMA1 的表达对 PD 细胞模型具有保护作用 and 抗凋亡的作用,可能为 PD 患者的治疗提供新的见解。

参考文献:

- [1] GBD Neurological Disorders Collaborator Group. Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 [J]. *Lancet Neurol*, 2017, 16(11): 877–897.
- [2] Kowal SL, Dall TM, Chakrabarti R, et al. The Current and projected economic burden of Parkinson's disease in the United States [J]. *Mov Disord*, 2013, 28(3): 311–318.
- [3] DeMaagd G, Philip A. Parkinson's disease and its management: part 1: disease entity, risk factors, pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis [J]. *P T*, 2015, 40(8): 504–532.
- [4] Emamzadeh FN. Role of apolipoproteins and α -synuclein in Parkinson's disease [J]. *J Mol Neurosci*, 2017, 62(3–4): 344–355.
- [5] Park JS, Davis RL, Sue CM. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: new mechanistic insights and therapeutic perspectives [J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2018, 18(5): 21.
- [6] Joshi AU, Saw NL, Vogel H, et al. Inhibition of Drp1/Fis1 interaction slows progression of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *EMBO Mol Med*, 2018, 10(3): e8166.
- [7] Khalil B, Liévens J. Mitochondrial quality control in amyotrophic lateral sclerosis: towards a common pathway? [J]. *Neural Regen Res*, 2017, 12: 1052–1061.
- [8] Acin-Perez R, Lechuga-Vieco AV, Del Mar Muñoz M, et al. Ablation of the stress protease OMA1 protects against heart failure

- in mice [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(434): eaa4935.
- [9] Yang F, Wu R, Jiang Z, et al. Leptin increases mitochondrial OPA1 via GSK3-mediated OMA1 ubiquitination to enhance therapeutic effects of mesenchymal stem cell transplantation [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5): 556.
- [10] Alavi MV. Targeted OMA1 therapies for cancer [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(9): 2330–2341.
- [11] Korwitz A, Merkwirth C, Richter-Dennerlein R, et al. Loss of OMA1 delays neurodegeneration by preventing stress-induced OPA1 processing in mitochondria [J]. *J Cell Biol*, 2016, 212(2): 157–166.
- [12] Wu Z, Zuo M, Zeng L, et al. OMA1 reprograms metabolism under hypoxia to promote colorectal cancer development [J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(1): e50827.
- [13] Creed RB, Goldberg MS. New Developments in Genetic rat models of Parkinson's Disease [J]. *Mov Disord*, 2018, 33(5): 717–729.
- [14] Subramaniam SR, Chesselet MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease [J]. *Prog Neurobiol*, 2013, 106/107: 17–32.
- [15] Polito L, Greco A, Seripa D. Genetic profile, environmental exposure, and their interaction in Parkinson's disease [J]. *Parkinsons Dis*, 2016, 2016: 6465793.
- [16] Qualls Z, Brown D, Ramlochan Singh C, et al. Protective effects of curcumin against rotenone and salsolinol-induced toxicity: implications for Parkinson's disease [J]. *Neurotox Res*, 2014, 25(1): 81–89.
- [17] Rocha SM, Bantle CM, Aboellail T, et al. Rotenone induces regionally distinct α -synuclein protein aggregation and activation of glia prior to loss of dopaminergic neurons in C57BL/6 mice [J]. *Neurobiol Dis*, 2022, 167: 105685.
- [18] Radad K, Al-Shraim M, Al-Emam A, et al. Rotenone: from modelling to implication in Parkinson's disease [J]. *Folia Neuropathol*, 2019, 57(4): 317–326.
- [19] 胡宇, 唐慧玲, 田清, 等. 鱼藤酮对大鼠认知功能及其海马 Warburg 效应和小胶质细胞极化的影响 [J]. *中山大学学报 (医学科学版)*, 2021, 42(6): 801–807.
- [20] Bastian P, Dulski J, Roszmann A, et al. Regulation of mitochondrial dynamics in Parkinson's disease-is 2-methoxyestradiol a missing piece? [J]. *Antioxidants*, 2021, 10(2): 248.
- [21] Meeusen S, DeVay R, Block J, et al. Mitochondrial inner-membrane fusion and crista maintenance requires the dynamin-related GTPase Mgm1 [J]. *Cell*, 2006, 127(2): 383–395.
- [22] Anand R, Wai T, Baker MJ, et al. The i-AAA protease YME1L and OMA1 cleave OPA1 to balance mitochondrial fusion and fission [J]. *J Cell Biol*, 2014, 204(6): 919–929.
- [23] Mishra P, Chan DC. Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(10): 634–646.
- [24] Baker MJ, Lampe PA, Stojanovski D, et al. Stress-induced OMA1 activation and autocatalytic turnover regulate OPA1-dependent mitochondrial dynamics [J]. *EMBO J*, 2014, 33(6): 578–593.
- [25] Quirós PM, Langer T, López-Otín C. New roles for mitochondrial proteases in health, ageing and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16(6): 345–359.
- [26] Jiang X, Jiang H, Shen Z, et al. Activation of mitochondrial protease OMA1 by Bax and Bak promotes cytochrome c release during apoptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(41): 14782–14787.
- [27] Xiao X, Hu Y, Quirós PM, et al. OMA1 mediates OPA1 proteolysis and mitochondrial fragmentation in experimental models of ischemic kidney injury [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 306(11): F1318–F1326.
- [28] Parajuli N, Shrum S, Tobacyk J, et al. Renal cold storage followed by transplantation impairs expression of key mitochondrial fission and fusion proteins [J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0185542.
- [29] Mogi M, Togari A, Kondo T, et al. Caspase activities and tumor necrosis factor receptor R1 (p55) level are elevated in the substantia nigra from parkinsonian brain [J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2000, 107(3): 335–341.
- [30] Hartmann A, Hunot S, Michel PP, et al. Caspase-3: A vulnerability factor and final effector in apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(6): 2875–2880.
- [31] Tatton NA. Increased caspase 3 and Bax immunoreactivity accompany nuclear GAPDH translocation and neuronal apoptosis in Parkinson's disease [J]. *Exp Neurol*, 2000, 166(1): 29–43.

[收稿日期] 2022-08-10