神经病学

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001109

线粒体功能障碍与多发性硬化的相关研究

唐世容，徐祖才
（遵义医学院附属医院神经内科，遵义 563003）

【摘 要】多发性硬化（multiple sclerosis，MS）是一种较常见的中枢神经系统特发性炎性脱髓鞘疾病，呈慢性缓解—复发病程，迄今病因未明，尚无法治愈。它是导致青壮年非创伤性残疾的主要疾病之一，对家庭和社会造成严重负担。越来越多的证据表明，线粒体功能障碍在 MS 发生发展中起着一定作用。本文就线粒体功能障碍与 MS 的相关研究作一综述。

【关键词】线粒体；线粒体功能障碍；多发性硬化
【中图分类号】R744.51 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-02-19

Correlation between mitochondrial dysfunction and multiple sclerosis

Tang Shirong, Xu Zucai
(*Department of Neurology, The Affiliated Hospital of Zunyi Medical College*)

【Abstract】Multiple sclerosis (MS) is an idiopathic inflammatory demyelinating disease in common central nervous system. It demonstrates a chronic remission relapse course; its etiology is unknown so far and there is no cure for it. It is one of the main causes of non traumatic disability in young adults, which is a serious burden to the family and society. There is increasing evidence that mitochondrial dysfunction plays a role in the development of MS. In this paper, we review the correlation between mitochondrial dysfunction and MS.

【Key words】mitochondria; mitochondrial dysfunction; multiple sclerosis

多发性硬化（multiple sclerosis，MS）是一种中枢神经系统炎性神经变性疾病[1]，影响全球约 250 万人。大多数 MS 患者病程开始于复发—缓解过程，逐渐出现不可逆神经损伤[2]。根据临床症状进展，MS 可分为 3 个不同亚型：其中，80%为复发缓解型（relapsing-remitting MS，RRMS），患者在明确诊断期间出现部分可恢复的神经功能缺损；20%为原发进展型（primary progressive MS，PPMS）；RRMS 中 65%病程可逐渐演变为继发进展型（secondary progressive MS，SPMS），以出现永久性神经功能缺损为特征[3]。遗传、环境因素、脱髓鞘、轴突变性和免疫反应在 MS 发病中起着重要作用，但具体机制仍不明确。最近有研究显示，线粒体损伤在脱髓鞘和轴突变性中起着一定作用；线粒体异常（如线粒体 DNA 缺陷）、线粒体酶活性异常参与 MS 发生发展[4]。另有研究显示，活性氧（reactive oxygen species，ROS）和一氧化氮（nitric oxide，NO）可触发线粒体损伤，继而氧化损伤少突胶质细胞、轴突，参与 MS 发病机制。越来越多的研究认为，线粒体损伤和随后能量衰竭是 MS 的主要驱动力之一[5]，线粒体功能障碍是 MS 发生发展的关键[6]。

作者介绍：唐世容，Email：441782705@qq.com，
研究方向：癫痫的基础与临床。
通信作者：徐祖才，Email：docxzc@126.com。
基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：81260201）。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20161215.1608.084.html（2016-12-15）

1 线粒体结构与功能

线粒体存在于所有真核细胞中[3]，为非核细胞器中唯一含有 DNA 的超微结构，有相对独立的遗传体系，称为线粒体 DNA（mitochondria DNA，mtDNA），负责合成线粒体 RNA 和蛋白质。线粒体基因组包括 37 个无内含子的基因，13 个电子传递链亚基，2 个核糖体 RNA 和 22 个转运 RNA。mtDNA 为母系遗传[7]。线粒体呼吸链由 5 个复合物组成：复合物Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ和复合物 V（ATP 合成酶）[8]。每一个复合物由多个亚基组成，这些亚基由核 DNA 和 mtDNA 编码[9]。线粒体通过呼吸链一系列氧化还原反应产生 ATP，为细胞供能。此外，还参与其他重要细胞过程，包括脂肪酸氧化、细胞凋亡和钙稳态。线粒体也不断产生 ROS，生理状态下保持动态平衡[3]。

2 线粒体结构异常与多发性硬化

mtDNA 稳定性与中枢神经系统保持正常功能密不可分。最近研究发现，线粒体在下调核 DNA 和 mtDNA 编码的转录

产物、mtDNA 氧化损伤、缺失以及呼吸链活性缺失，从而导致 MS 发病机制中发挥着作用[6]。MS 炎症导致 ROS、氮自由基（reactive nitrogen species，RNS）释放，启动脂质过氧化连锁反应，激活免疫细胞，诱导和加重炎症、mtDNA 氧化损伤断裂、mtDNA 缺失（mitochondrial DNA deletions，Δ-mtDNA），进一步引起 mtDNA 克隆扩增，损伤线粒体呼吸链，降低呼吸酶活性，导致 MS 神经系统功能缺失，促进 MS 复发进展[2]。

2.1 线粒体 DNA 异常

2.1.1 线粒体 DNA 缺失 有研究发现 Δ-mtDNA 与 MS、阿尔茨海默病（Alzheimer's disease，AD）和帕金森病（Parkinson's disease，PD）的发病机制及老化有密切联系[10]。另有证据显示 mtDNA 异常，尤其是 Δ-mtDNA，在 MS 渐进阶段中起着重要作用[6]。Campbell 等[2]探讨 SPMS 患者 Δ-mtDNA 与线粒体呼吸链活动的联系，结果发现 MS 急慢性炎症，损伤 mtDNA，导致高异质性水平 Δ-mtDNA，并通过修复和克隆扩增过程，从而导致神经元呼吸链缺陷。此后 Campbell 等[10]进一步发现 MS 与 AD、PD 及对照组相比，脉络丛上皮细胞显著缺乏催化复合物 IV 的主要亚基（细胞色素 C 氧化酶）。单细胞分析显示 MS 中存在 Δ-mtDNA 克隆扩增的脉络丛上皮细胞呼吸酶缺陷比例增加 4 倍。MS 脉络丛上皮细胞、线粒体长期暴露于炎症所致的 ROS 和 NO 环境中，故认为 Δ-mtDNA 克隆扩增在 MS 中可作为炎症和延迟细胞能量衰竭之间的分子联系。

然而不同的是，Campbell 等[9]在前期研究基础上，观察 MS 患者椎旁肌纤维是否存在 Δ-mtDNA 和呼吸酶缺乏。结果显示 MS 与对照组相比，其肌纤维呼吸酶缺陷比例、Δ-mtDNA 水平及高水平 Δ-mtDNA 的肌纤维比例并没有显著不同。其结果不支持 MS 存在多系统弥漫性线粒体异常，进一步探索 MS 中枢神经系统线粒体功能障碍原因仍然是研究重点。

2.1.2 线粒体 DNA 突变 目前越来越多的证据支持 MS 遗传易感性作用，如已证实与 MS 相关的线粒体基因变异T4216C 和 A4917G[11]。Mihailova 等[12]纳入 58 例保加利亚无 Leber 遗传性视神经病变（Leber's hereditary optic neuropathy，LHON）的 MS 患者和 104 例对照组，从欧洲单倍群及 LHON 三次级突变（4216，14798，13708）存在下进行 14 mtDNA 多态性分析，结果表明 4216C 碱基置换可被视为诱发 MS 的标记，该特定 mtDNA 变异可有利论证 MS 遗传易感性。mtDNA 多态性是一个可能促成 MS 母系遗传易感性的因素。Yu 等[13]纳入 2 639 例西班牙、挪威、德国、芬兰、意大利 MS 患者和 2 582 例对照组的 6 项病例对照研究，发现 nt13708A 等位基因与 MS 风险增加有关（OR=1.71，95%CI=1.28~2.26，P=0.000 2）。

另有学者纳入 77 例高加索 MS 患者和 84 例对照组筛查，未发现 mtDNA 突变与 MS 相关联，但 mtDNA NP 10394 和 14798 的单倍型 K 和 j 与 MS 相关（P=0.001）。这一结果证明 mtDNA 点突变可能未参与 MS 典型形式的发病机制，但单倍型 K 和 j 可适度导致 MS 易感性[7]。Tranah 等[14]纳入 7 391例芬兰、意大利、挪威、瑞典、英国、美国、德国 MS 患者和 14 568 例对照组病例对照研究也得出相似的结果，线粒体 DNA 突变与 MS 无明显相关，但单倍型 K 和 T 可显著增加MS 易感性。此外，Andalib 等[11]纳入 100 例伊朗 MS 患者和 100 例对照组研究，发现 mtDNA ND1 T4216C 和 ND2 A4917G 变异在伊朗人群中与 MS 无关联。类似的是 Andalib 等[15]发现 mtDNA G15257A 和 G15812A 在伊朗人群中与 MS 无关联。这些看似矛盾的结果可能与 mtDNA 在不同人群、不同种族的变化有关，mtDNA 突变可能引起线粒体功能障碍而导致 MS 仍存在争议，尚需在不同人群和种族中进一步探索。

2.2 线粒体呼吸链异常

Campbell 等[2]发现 SPMS 患者神经元细胞缺乏 mtDNA编码催化复合物Ⅳ的亚基。此后 Campbell 等[10]进一步发现 MS 脉络丛上皮细胞缺乏复合物Ⅳ和完整的复合物Ⅱ活性；同时显著缺乏细胞色素 C 氧化酶。而线粒体呼吸链复合物缺乏或酶活性降低，可导致轴突能量衰竭而变性，参与 MS 发生发展[16]。Fischer 等[5]研究也证实 MS 患者线粒体呼吸链受到干扰。Kashani 等[4]通过褪黑激素研究发现恢复线粒体呼吸酶活性及减少轴突线粒体内过氧化物累积，可逆转自身免疫性脑脊髓膜炎（experimental autoimmune encephalomyelitis，EAE）小鼠脱髓鞘。

3 线粒体参与的病理生理改变与多发性硬化

3.1 线粒体与氧化应激

越来越多的证据表明，炎症可刺激 ROS 释放，而 ROS 一旦被触发，则启动脂质过氧化连锁反应，激活免疫细胞，诱导、加重炎症，介导线粒体损伤，导致能量衰竭，进一步产生 ROS 蓄积形成恶性循环[17]，最终诱导凋亡级联和细胞死亡[18]。ROS 蓄积、氧化应激[19]和线粒体功能障碍可促进 MS 神经变性进程[20-21]。Fischer 等[5]在 MS 患者尸检脑组织中通过烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶免疫组化分析，结果显示线粒体氧化损伤，不仅引起能量不足，而且导致 ROS 产生，进一步加重神经元损伤。此外，线粒体富含多种抗氧化酶，包括过氧化物酶-3 和硫氧还原蛋白-2，参与 ROS 诱导损伤[21]。过氧化物酶体增殖活化受体 γ 辅助活化因子 1α（peroxisome proliferator-activated receptorγcoactivator1α，PGC-1α）是核转录辅激活因子和线粒体抗氧化酶功能的主要调节器，具有抗氧化性质。PGC-1α 通过调节过氧化物酶-3 和硫氧还原蛋白-2 活性，在应对 ROS 诱导损伤神经元中起着重要保护作用。Maarten 等[20]通过 RNA 介导 PGC-1α 沉默，发现线粒体氧化磷酸化亚基转录降低，抗氧化剂和解偶联蛋白表达减少，从而导致线粒体膜电位降低，ROS 形成增加，诱导神经元细胞死亡。并在 MS 尸检脑组织灰质中得到证实。Nijland 等[21]进一步证实了 PGC-1α 的作用，通过免疫组化分析显示脱髓鞘病变中PGC-1α 显著上调了下游线粒体抗氧化剂活性。PGC-1α 的激活可能充当 MS 内源性保护机制，以抑制氧化损伤和炎症从而降低神经变性。

活性氧清除剂及神经保护疗法，特别是预防神经元氧化损伤有望成为 MS 治疗新思路[22-23]。研究表明，褪黑激素是线粒体靶向抗氧化剂，可改善线粒体功能，抑制脱髓鞘[24-25]。Kashani 等[4]通过 EAE 小鼠模型研究，结果显示褪黑激素可减少氧化应激，恢复线粒体呼吸酶活性，减少轴突线粒体内过氧化物累积，从而逆转 EAE 小鼠脱髓鞘。但此保护作用是否同样适用于 MS 患者还需进一步研究。另有学者发现辅酶 Q10 可通过抑制氧化应激，预防线粒体功能障碍，阻止线粒体介导细胞凋亡途径，增强对星形胶质细胞的保护[26]，可能为 MS 治疗提供新靶点[19]。

3.2 线粒体与脱髓鞘、轴突变性

脱髓鞘是 MS 炎症损伤最为显著的病理变化。急性脱髓鞘时少突胶质细胞首先肿胀变性，轴突可保持相对完整；慢性脱髓鞘，少突胶质细胞严重变性甚至缺失，轴突变性缺失，星形胶质细胞破坏，线粒体钙超载，ROS 蓄积和线粒体功能障碍，导致神经细胞死亡，出现永久性神经功能缺损[27]。已有研究证实轴突变性是原发性和继发性脱髓鞘疾病出现永久神经功能障碍的重要原因，而线粒体功能异常导致线粒体呼吸链复合物或酶的缺乏，可进一步导致轴突能量衰竭而变性[16,28-29]。Li 等[30]研究发现 MS 神经元线粒体代谢物 N-乙酰天门冬氨酸水平减少，可导致少突胶质细胞缺少用于髓鞘脂质合成的乙酸，表明线粒体功能障碍可导致髓鞘损害。Vidaurre 等[31]在MS 患者脑脊液中发现神经酰胺富集，证实其可诱导神经元线粒体功能障碍和轴索损害。另有研究发现 MS 患者部分脱髓鞘和轴突病变是可逆的，而神经元损伤是不可逆的。Zambonin 等[32]通过 MS 患者死后脱髓鞘组织和动物实验发现脱髓鞘的轴突通过髓鞘再生增加线粒体，恢复线粒体呼吸酶活性，这与改善局部能源增加的需求一致。此外，Su 等[27]通过 EAE 实验，证实原癌基因 Shc 家族成员之一的 p66ShcA（P66）在EAE 小鼠 ROS 介导的线粒体功能障碍中起关键保护作用，并确定 P66 可作为 MS 轴索损伤神经保护疗法的新靶标性药物。

MS 发病机制中轴突损伤是永久性神经功能缺损的主要原因，但轴突损伤如何开始仍然不得而知。有研究表明，郎飞结是外周轴突中线粒体损伤的初始部位，并表明轴突生物能量学失调起着触发氧化应激改变线粒体及随后轴突损伤的关键作用[33]。Nikić 等[34]在 MS 小鼠模型中使用体内成像，以识别轴突损伤变化。其过程特征在于从轴突局灶性肿胀进展到轴突碎片，故称为“局灶性轴突变性”（focal axonal degeneration，FAD），这与 MS 经典脱髓鞘不完全相符，脱髓鞘不是轴突损伤的先决条件。相反，局灶性轴突内线粒体病理损伤是轴突形态改变之前的超微结构改变。ROS 和 RNS 可触发线粒体病理学改变，激发 FAD。作者认为炎性轴突损伤可能是自发可逆的并可作为治疗的潜在目标。Bando 等[35]也在 EAE 小鼠和人类 MS 患者中通过扫描电镜发现髓鞘和轴突线粒体的超微形态学异常改变。

3.3 线粒体与免疫反应

目前已明确免疫反应参与了 MS 发病机制，近期研究发现线粒体在其中起着重要作用。炎症初始氧化应激致线粒体功能障碍，星形胶质细胞提呈抗原，免疫系统介导一系列瀑布效应，T 细胞浸润，少突胶质细胞受损、凋亡，进而导致其包裹的髓鞘脱失，轴突变性，小胶质细胞活化、巨噬细胞反应进一步促进 MS 进展，星形胶质细胞抑制髓鞘和轴突再生形成胶质瘢痕，加重轴突线粒体功能障碍，出现永久性神经功能缺失[29,36]。另有研究显示 MS 患者神经元和少突胶质细胞线粒体氧化损伤与脱髓鞘和轴突损伤密切相关[5]。

3.4 线粒体与钙超载、细胞凋亡

此外，有研究表明，MS 还与线粒体介导钙超载、细胞凋亡密切相关。Su 等[37]研究发现由 ROS 介导的线粒体通透性转换孔（mitochondrial permeability transition pore，MPTP）开放、钙失调和细胞凋亡是 MS 中引发线粒体功能障碍和神经退行性病变的关键。

4 结语

MS 是一种中枢神经系统炎性神经变性疾病，目前大量研究已明确线粒体功能障碍（包括线粒体 DNA 异常、呼吸链异常、呼吸酶活性异常）在 MS 炎症介导的氧化应激、脱髓鞘、轴突变性、免疫反应、钙超载、细胞凋亡等方面都起着一定的作用，但其具体机制仍不明确，尚需要进一步研究和探索。

参 考 文 献

[1] Singhal NK, Li S, Arning E, et al. Changes in methionine metabolism and histone H3 trimethylation are linked to mitochondrial defects in multiple sclerosis[J]. J Neurosci, 2015, 35(45): 15170-15186.

[2] Campbell GR, Ziabreva I, Reeve AK, et al. Mitochondrial DNA deletions and neurodegeneration in multiple sclerosis[J]. Ann Neurol, 2011, 69(3): 481-492.

[3] Witte ME, Mahad DJ, Lassmann H, et al. Mitochondrial dysfunction contributes to neurodegeneration in multiple sclerosis[J]. Trends Mol Med, 2014, 20(3): 179-187.

[4] Kashani IR, Rajabi Z, Akbari M, et al. Protective effects of melatonin against mitochondrial injury in a mouse model of multiple sclerosis[J]. Exp Brain Res, 2014, 232(9): 2835-2846.

[5] Fischer MT, Sharma R, Lim JL, et al. NADPH oxidase expression in active multiple sclerosis lesions in relation to oxidative tissue damage and mitochondrial injury[J]. Brain, 2012, 135(Pt 3): 886-899.

[6] Campbell GR, Mahad DJ. Clonal expansion of mitochondrial DNA deletions and the progression of multiple sclerosis[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2012, 11(5): 589-597.

[7] Andalib S, Talebi M, Sakhinia E, et al. Multiple sclerosis and mitochondrial gene variations: a review[J]. J Neuro Sci, 2013, 330(1-2): 10-15.

[8] Iñarrea P, Alarcia R, Alava MA, et al. Mitochondrial complex en-

zyme activities and cytochrome C expression changes in multiple sclerosis[J]. Mol Neurobiol,2014,49(1):1-9.

[9] Campbell GR,Reeve AK,Ziabreva I,et al. No excess of mitochondrial DNA deletions within muscle in progressive multiple sclerosis[J]. Mult Scler,2013,19(14):1858-1866.

[10] Campbell GR,Kraytsberg Y,Krishnan KJ,et al. Clonally expanded mitochondrial DNA deletions within the choroid plexus in multiple sclerosis[J]. Acta Neuropathol,2012,124(2):209-220.

[11] Andalib S,Talebi M,Sakhinia E,et al. Mitochondrial DNA T4216C and A4917G variations in multiple sclerosis[J]. J Neurol Sci,2015,356(1-2):55-60.

[12] Mihailova SM,Ivanova MI,Quin LM,et al. Mitochondrial DNA variants in Bulgarian patients affected by multiple sclerosis[J]. Eur J Neurol,2007,14(1):44-47.

[13] Yu X,Koczan D,Sulonen AM,et al. mtDNA nt13708A variant increases the risk of multiple sclerosis[J]. PLoS ONE,2008,3(2):e1530

[14] Tranah GJ,Santaniello A,Caillier SJ,et al. Mitochondrial DNA sequence variation in multiple sclerosis[J]. Neurology,2015,85(4):325-330.

[15] Andalib S,Talebi M,Sakhinia E,et al. Lack of association between mitochondrial DNA G15257A and G15812A variations and multiple sclerosis[J]. J Neurol Sci,2015,356(1-2):102-106.

[16] Tully M,Shi R. New insights in the pathogenesis of multiple sclerosis-role of acrolein in neuronal and myelin damage[J]. Int J Mol Sci,2013,14(10): 20037-20047.

[17] Haider L. Inflammation,iron,energy failure,and oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis[J]. Oxid Med Cell Longev,2015,2015:725370.

[18] Vyssokikh MY,Antonenko YN,Lyamzaev KG,et al. Methodology for use of mitochondria-targeted cations in the field of oxidative stress-related research[J]. Methods Mol Biol,2015(1265):149-159.

[19] Mao P,Manczak M,Shirendeb UP,et al. MitoQ,a mitochondria-targeted antioxidant,delays disease progression and alleviates pathogenesis in an experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model of multiple sclerosis[J]. Biochim Biophys Acta,2013,1832(12):2322-2331.

[20] Witte ME,Nijland PG,Drexhage JA,et al. Reduced expression of PGC-1a partly underlies mitochondrial changes and correlates with neuronal loss in multiple sclerosis cortex[J]. Acta Neuropathol,2013,125(2):231-243.

[21] Nijland PG,Witte ME,van het Hof B,et al. Astroglial PGC-1alpha increases mitochondrial antioxidant capacity and suppresses inflammation:implications for multiple sclerosis[J]. Acta Neuropathol Commun,2014,2(1):170.

[22] Kamat PK,Kalani A,Kyles P,et al. Autophagy of mitochondria:a promising therapeutic target for neurodegenerative disease[J]. Cell Biochem Biophys,2014,70(2):707-719.

[23] Kuračka L,Kalnovičová T,Kucharská J,et al. Multiple sclerosis:evaluation of purine nucleotide metabolism in central nervous system in association with serum levels of selected fat-soluble antioxidants[J]. Mult Scler Int,2014,2014(3):759808-759817.

[24] Ramis MR,Esteban S,Miralles A,et al. Protective effects of melatonin and mitochondria-targeted antioxidants against oxidative stress:a review[J]. Curr Med Chem,2015,22(22):2690-2711.

[25] Anderson G,Rodriguez M. Multiple sclerosis:the role of melatonin and N-acetylserotonin[J]. Mult Scler Relat Disord,2015,4(2):112-123.

[26] Jing L,He MT,Chang Y,et al. Coenzyme Q10 protects astrocytes from ROS-induced damage through inhibition of mitochondria-mediated cell death pathway[J]. Int J Biol Sci,2015,11(1):59-66.

[27] Su KG,Savino C,Marracci G,et al. Genetic inactivation of p66 ShcA is neuroprotective in a murine model of multiple sclerosis[J]. Eur J Neurosci,2012,35(4):562-571.

[28] Campbell GR,Worrall JT,Mahad DJ. The central role of mitochondria in axonal degeneration in multiple sclerosis[J]. Mult Scler,2014,20(14):1806-1813.

[29] Witte ME,Mahad DJ,Lassmann H,et al. Mitochondrial dysfunction contributes to neurodegeneration in multiple sclerosis[J]. Trends Mol Med,2014,20(3):179-187.

[30] Li S,Clements R,Sulak M,et al. Decreased NAA in gray matter is correlated with decreased availability of acetate in white matter in postmortem multiple sclerosis cortex[J]. Neurochem Res,2013,38(11):2385-2396.

[31] Vidaurre OG,Haines JD,Katz Sand I,et al. Cerebrospinal fluid ceramides from patients with multiple sclerosis impair neuronal bioenergetics[J]. Brain,2014,137(Pt 8):2271-2286.

[32] Zambonin JL,Zhao C,Ohno N,et al. Increased mitochondrial content in remyelinated axons:implications for multiple sclerosis[J]. Brain,2011,134(Pt 7):1901-1913.

[33] Bros H,Millward JM,Paul F,et al. Oxidative damage to mitochondria at the nodes of Ranvier precedes axon degeneration in ex vivo transected axons[J].Exp Neurol,2014,261:127-135.

[34] Nikić I,Merkler D,Sorbara C,et al. A reversible form of axon damage in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis[J].Nat Med,2011,17(4):495-499.

[35] Bando Y,Nomura T,Bochimoto H,et al. Abnormal morphology of myelin and axon pathology in murine models of multiple sclerosis[J]. Neurochem Int,2015,81:16-27.

[36] Correale J,Farez MF. The role of astrocytes in multiple sclerosis progression[J]. Front Neurol,2015,6(180):180.

[37] Su K,Bourdette D,Forte M. Mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in multiple sclerosis[J]. Front Physiol,2013,4(4):169-179.

（责任编辑：冉明会）