

肠道病毒71型对人神经胶质瘤U251细胞线粒体动力学的影响*

张琬根¹, 刘正芸², 王盛羽², 罗果², 易海波², 宋鸿¹, 王欢^{1,2,Δ}

1. 遵义医科大学医学微生物学教研室(遵义 563000); 2. 贵州省普通高等学校传染病与生物安全特色重点实验室(遵义 563000)

【摘要】目的 探讨肠道病毒71型(EV71)对人神经胶质瘤U251细胞线粒体动力学的影响。**方法** 采用非洲绿猴肾细胞Vero对EV71进行增殖,用Reed-Muench公式计算病毒液的50%细胞感染剂量(50% tissue culture infective dose, TCID₅₀);将EV71接种于U251细胞,光学显微镜下观察细胞形态,激光共聚焦显微镜下观察线粒体形态,透射电镜观察线粒体超微结构的改变;Western blot检测线粒体分裂蛋白Drp1、p-Drp1(S637)和融合蛋白Opa1的表达水平;ATP试剂盒检测线粒体ATP水平;MitoSOX染色检测线粒体超氧化物水平。**结果** EV71的TCID₅₀为10^{-5.4}/0.1 mL;EV71感染U251细胞24 h、48 h后细胞明显出现皱缩、变圆或死亡。激光共聚焦显微镜和透射电镜结果显示, EV71感染后细胞线粒体明显延长,线粒体嵴模糊不清;Western blot结果显示, EV71感染U251细胞24 h和48 h后, Drp1、Opa1表达降低,而p-Drp1(S637)在48 h表达升高,且差异有统计学意义(P<0.05)。EV71感染48 h后,与未感染EV71的U251细胞相比,线粒体ATP生成减少,线粒体超氧化物水平升高(P<0.05)。**结论** EV71感染U251细胞后,能引起线粒体形态及动力学改变,进而导致线粒体功能的变化,这可能是其引起神经系统功能紊乱的机制之一。

【关键词】 肠道病毒71型 人神经胶质瘤U251细胞 线粒体动力学

Effects of Enterovirus 71 on Mitochondrial Dynamics in Human Glioma U251 Cells ZHANG Wan-ling¹, LIU Zheng-yun², WANG Sheng-yu², LUO Guo², YI Hai-bo², SONG Hong¹, WANG Huan^{1,2,Δ}. 1. Department of Microbiology, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China; 2. Key Laboratory of Infectious Diseases and Biosafety of Colleges in Guizhou Province, Zunyi 563000, China

Δ Corresponding author, E-mail: wanghuan928@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of enterovirus 71 (EV71) on mitochondrial dynamics in human Glioma U251 cells. **Methods** The EV71 was replicated in Vero cells and the 50% tissue culture infective dose (TCID₅₀) was calculated based on the Reed-Muench formula. After the U251 cells were infected with EV71, the cellular morphology was assessed through the light microscope. The mitochondrial morphology was detected by MitoTracker Deep Red staining under laser confocal microscopy and the mitochondrial ultrastructure was visualized by transmission electron microscopy. The expressions of mitochondrial fission proteins Drp1, p-Drp1 and fusion protein Opa1 were examined by Western blot. The level of ATP was measured by a commercial ATP assay kit. The generation of mitochondrial superoxide was detected by MitoSOX staining. **Results** The TCID₅₀ of EV71 was 10^{-5.4}/0.1 mL. Twenty-four or 48 h after EV71 infection, the U251 cells appeared shrunken, round and dead. The laser confocal microscopy and transmission electron microscopy images showed that the EV71 infection induced mitochondrial elongation and cristae damage. Moreover, Western blot analysis demonstrated that the protein expressions of Drp1 and Opa1 were downregulated at both 24 and 48 h after EV71 infection in U251 cells, accompanied with a significant increase in Drp1 phosphorylation at 48 h after infection (P<0.05). In addition, a decreased ATP level and elevated mitochondrial superoxide generation were observed in the EV71 infected group, as compared to the control group. **Conclusion** Our study demonstrated that infection with EV71 led to changes of mitochondrial morphology and dynamics in U251 cells, which may impair mitochondrial function and contribute to nervous system dysfunction.

【Key words】 Enterovirus 71 Human glioma U251 cells Mitochondrial dynamics

肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)是儿童手足口病的主要病因,部分患儿累及中枢神经系统,引起脑干脑炎、无菌性脑膜炎和急性弛缓性麻痹等多种神经系统并发症。自1997年以来, EV71曾多次在亚太地区大规模爆发,近年来,重症手足口病的发病率、死亡率不断增加,对

儿童的健康构成了巨大威胁^[1-5]。线粒体是细胞的能量工厂,对维持钙稳态、活性氧的产生和调节、细胞凋亡等有重要的作用。同时线粒体也是高度动态的细胞器,不断地融合和分裂对维持线粒体的正常形态和功能十分重要。研究发现线粒体动力学平衡对神经元的稳态尤为重要,分裂和融合蛋白的异常改变,可导致周围神经病变和神经系统发育受损^[6]。诸多研究报道,线粒体动力学异常与神经退行性疾病(如阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿

* 国家自然科学基金项目(No. 81960372)、贵州省教育厅建设项目(黔教合KY字[2015]331)、贵州省遵义市科技计划项目(遵市科合社字[2018]34号)资助

Δ 通信作者, E-mail: wanghuan928@163.com

病、肌萎缩侧索硬化等)的发生发展密切相关。其中由Drp1介导的线粒体过度分裂,导致线粒体动力学失衡、功能障碍,引起神经元损伤,可能是神经退行性疾病的发病机制之一^[7-10]。在病毒致病过程中,由于细胞生理状态改变而出现钙离子代谢失调、内质网应激、氧化应激和缺氧等,这些情况都能影响线粒体动力学。目前关于EV71引起严重中枢神经系统并发症的机制尚不清楚,线粒体动力学与EV71感染的相关研究也未见报道,因此,本研究拟以人神经胶质瘤细胞为研究模型,探讨EV71感染对神经细胞线粒体动力学影响,旨在为EV71引起神经系统发病机制提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

EV71病毒株(BrCr株)购自ATCC公司;U251细胞和Vero细胞均为本实验室保存;EV71-VP1鼠单克隆抗体购自Abnova公司,线粒体分裂蛋白Drp1、线粒体融合蛋白Opa1、磷酸化的线粒体分裂蛋白p-Drp1(S637)、 β -actin、HRP标记的山羊抗兔IgG和马抗小鼠IgG等抗体均购自Cell Signaling Technology公司,ATP试剂盒购自碧云天公司,MitoSOX购自上海翊圣生物科技有限公司,MitoTracker[®] Deep Red FM购自Invitrogen公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与病毒感染剂量测定 U251细胞和Vero细胞分别用含有10%的胎牛血清、100 IU/mL青霉素、100 μ g/mL链霉素的DMEM和DMEM F-12完全培养基,于37 $^{\circ}$ C、体积分数5% CO₂培养箱内培养。采用Vero细胞对EV71进行增殖,取对数生长期的Vero细胞,胰蛋白酶消化,按 5×10^4 /mL接种于96孔板中,每孔100 μ L,待细胞长满单层,弃去培养液,PBS清洗,将EV71病毒原液用DMEM F-12培养基依次10倍稀释(10^{-1} ~ 10^{-10}),每个稀释度接种8个孔,另设16孔作空白对照,只加完全培养基,每孔0.1 mL。置于37 $^{\circ}$ C,体积分数5% CO₂培养箱中培养,每日观察并记录细胞病变效应(CPE),连续72 h,用Reed-Muench公式计算病毒液的50%细胞感染剂量(50% tissue culture infective dose, TCID₅₀)^[11]。TCID₅₀ = CPE > 50%病毒稀释度 + (CPE > 50%的百分数 - 50) / (CPE > 50%的百分数 - CPE < 50%的百分数)。根据TCID₅₀计算感染复数(MOI)。MOI = $0.7 \times$ TCID₅₀ \times 病毒液体积 / 总细胞数。公式中病毒液体积单位为mL。

1.2.2 激光共聚焦显微镜检测线粒体形态 取对数生长期的U251细胞,以 1×10^5 /孔接种于Petri皿中,以MOI=0.1的EV71感染48 h(感染组),同时设含U251细胞

的阴性DMEM培养基为对照组。用预热的DMEM培养基清洗细胞,取适量预热的200 nmol/L MitoTracker[®] Deep Red FM工作液覆盖皿中细胞,37 $^{\circ}$ C避光孵育20 min。用预热的无血清培养基清洗6次,共聚焦显微镜下观察拍照。

1.2.3 透射电镜观察线粒体形态 取对数生长期U251细胞,接种于直径100 mm的培养皿中,每皿接种 3×10^7 个细胞。以MOI=0.1的EV71感染细胞48 h(感染组),同时设含U251细胞的阴性DMEM培养基为对照组。收集消化细胞于离心管中,1 000 r/min离心5 min,弃上清,沿管壁缓缓加入2.5%戊二醛4 $^{\circ}$ C固定过夜,0.01 mol/L PBS清洗3次;1%的锇酸固定2 h,0.01 mol/L PBS清洗3次,梯度丙酮脱水,Epon812包埋,超薄切片,醋酸铀染色5 min,流水洗2 min,柠檬酸铅染色5 min,流水洗2 min。电镜下观察细胞内线粒体形态并采集图像。

1.2.4 Western blot检测线粒体动力学蛋白 取对数生长期U251细胞,接种于6孔板中,细胞接种密度为 5×10^5 /孔,待细胞生长80%以上时,弃掉培养液,用无菌PBS清洗3次。以MOI=0.1的EV71感染U251细胞(感染组),同时设含U251细胞的阴性DMEM培养基为对照组,37 $^{\circ}$ C,体积分数5% CO₂,6孔板中静止吸附2 h,期间摇晃培养板1~2次;吸去病毒液,每孔加入2 mL含胎牛血清的DMEM维持液,37 $^{\circ}$ C,体积分数5% CO₂培养。病毒感染24 h和48 h后,分别用RIPA裂解液提取两组细胞总蛋白,用BCA法测蛋白浓度后于SDS-PAGE上电泳分离,上样量为40 μ g,然后转印至PVDF膜上;BSA室温封闭2 h后,一抗[VP1、Drp1、p-Drp1(S637)和Opa1(1:1 000),内参 β -actin(1:5 000)]4 $^{\circ}$ C孵育过夜,TBST 5 min \times 5次;相应二抗(1:1 500)室温孵育2 h,TBST 5 min \times 5次;用增强型ECL化学液发光,凝胶成像系统曝光。VP1蛋白是EV71重要的衣壳蛋白,具有抗原特异性,所以使用VP1作为抗原,对EV71感染进行鉴别诊断。用Image J软件扫描并计算Drp1、p-Drp1(S637)、Opa1与 β -actin的灰度值的比值,以反映线粒体动力学蛋白的相对表达水平。

1.2.5 线粒体ATP测定 取对数生长期U251细胞,接种于6孔板中,细胞接种密度为 5×10^5 /孔,待细胞生长80%以上时,弃掉培养液,用无菌PBS清洗3次。以MOI=0.1的EV71感染U251细胞(感染组),同时设阴性DMEM培养基为对照组。病毒感染24 h和48 h后,分别用ATP裂解液裂解两组细胞,4 $^{\circ}$ C 12 000 \times g离心5 min,取上清,按照ATP试剂盒说明书进行测定。

1.2.6 MitoSOX检测线粒体超氧化物水平 线粒体超氧化物的产生被认为是线粒体氧化应激的一种直接的指示剂,可反映细胞内活性氧水平。取对数生长期的U251细

胞,以 1×10^5 /孔接种于Petri皿中,以MOI=0.1的EV71感染U251细胞48 h(感染组),同时设含U251细胞的阴性DMEM培养基为对照组。用预热的DMEM培养基轻轻清洗细胞,然后将预热的 $5 \mu\text{mol/L}$ 的MitoSOX Red工作液覆盖皿中细胞,37℃避光孵育35 min。用预热的无血清培养基快速清洗6次,共聚焦显微镜下观察拍照。实验重复3次,每组选取10张图片,每张图片随机选取5个细胞,用Leica Microsystems LAS AF图像分析软件,以红色荧光强度作为反映线粒体超氧化物的指标。

1.2.7 统计学方法 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TCID₅₀测定结果

EV71的TCID₅₀测定结果为 $10^{-5.4}/0.1 \text{ mL}$,即将病毒悬液作 $10^{5.4}$ 倍稀释,可使50%细胞发生病变。

2.2 EV71对U251细胞形态的影响

光镜下可见,与对照组相比,EV71感染U251细胞24 h后,细胞开始出现变圆、皱缩、细胞间隙增大、从瓶壁脱落等典型的细胞病变效应(CPE)现象,在48 h时现象更为明显(图1)。

2.3 EV71对U251细胞线粒体形态的影响

结果显示:在共聚焦显微镜下观察,对照组线粒体呈

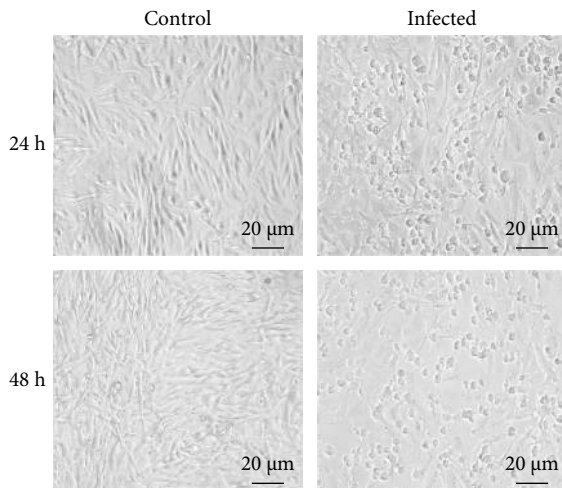


图1 光学显微镜下观察EV71对U251细胞形态的影响

Fig 1 The effect of EV71 on morphology of U251 cells under the optical microscope

片段状或点状,感染组线粒体呈线状,明显延长(图2A)。在透射电镜下,对照组线粒体结构清晰完整,嵴密集;感染组线粒体肿胀、明显延长、嵴模糊不清、排列紊乱(图2B和图2C中箭头所示)。结果提示:EV71感染U251细胞可

使线粒体形态发生延长。

2.4 EV71对U251细胞线粒体动力学蛋白的影响

EV71感染U251细胞24 h、48 h后,Western blot结果

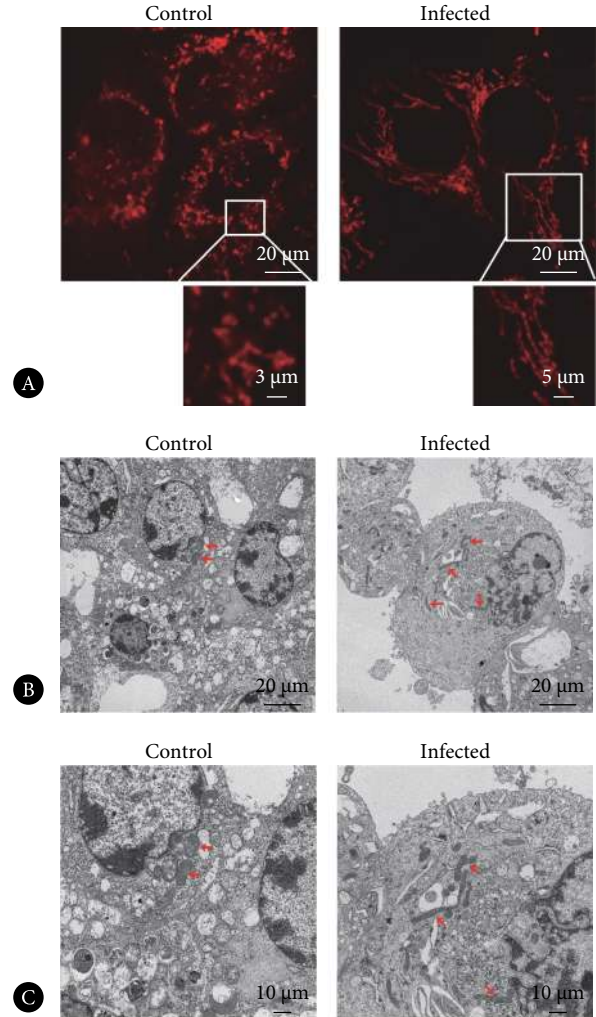


图2 激光共聚焦显微镜(A)和透射电子显微镜(B、C)观察EV71对U251细胞线粒体形态的影响

Fig 2 The effects of EV71 on mitochondrial morphology and ultrastructure of U251 cells observed by laser confocal microscopy (A) and transmission electron microscopy (B, C)

A: Mitochondria were stained with MitoTracker; B, C: Mitochondrial ultrastructure was visualized by transmission electron microscopy (red arrows indicate mitochondria); C: The zoomed-in image of figure B

显示(图3),与对照组相比,感染组均可见VP1蛋白的特异性表达,表明EV71能成功感染U251细胞;Drp1、Opa1表达均降低,p-Drp1(S637)在48 h表达升高,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5 EV71对U251细胞线粒体ATP的影响

EV71感染U251细胞24 h和48 h后,与对照组相比,感染组ATP水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)(图4)。提示EV71感染可导致细胞内线粒体ATP合成下降。

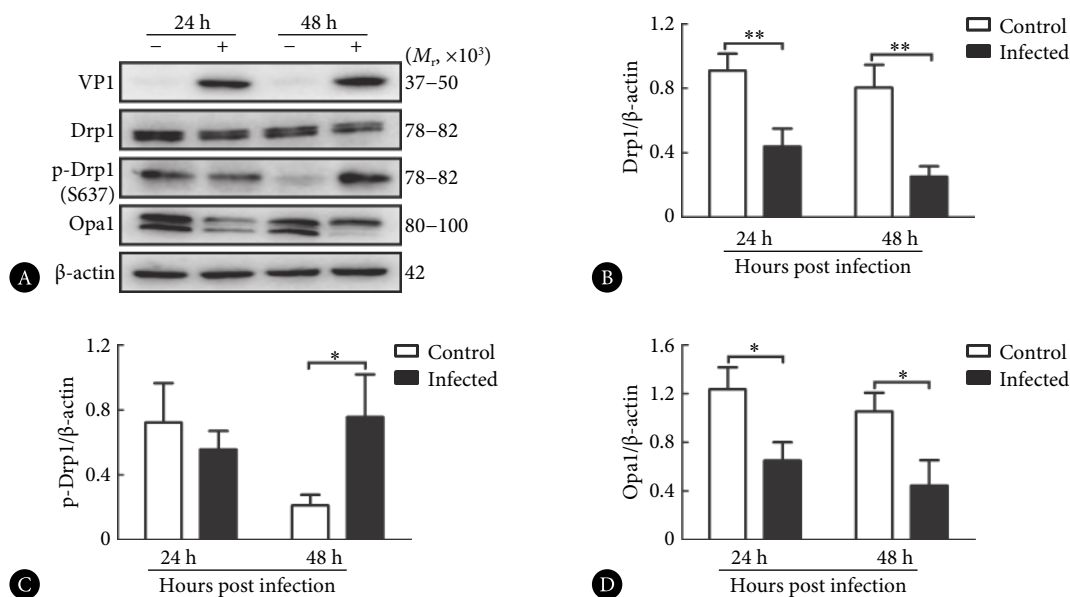


图 3 各组中Drp1、p-Drp1、Opa1蛋白的表达

Fig 3 The expressions of Drp1, p-Drp1 and Opa1 detected by Western blot analysis

A: Electrophoretogram; B: Drp1; C: p-Drp1; D: Opa1. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.6 EV71对U251细胞线粒体超氧化物水平的影响

见图5, 经Leica Microsystems LAS AF图像分析软件量化荧光强度数值: 对照组(66.807 8±10.788 6), 感染组(119.784 2±12.870 3), 感染组超氧化物水平明显增加, 且

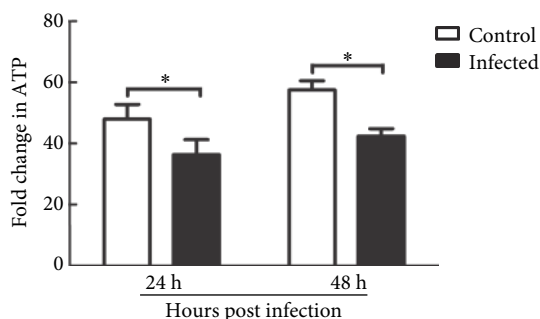


图 4 EV71对U251细胞线粒体ATP的影响

Fig 4 The effect of EV71 infection on mitochondrial ATP levels in U251 cells

* $P < 0.05$

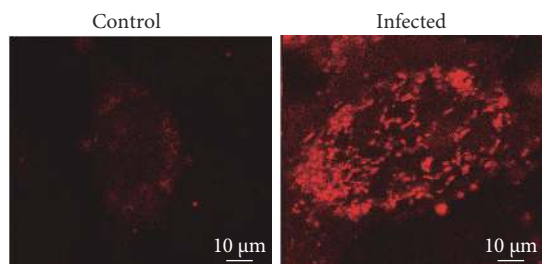


图 5 MitoSOX染色检测EV71对U251细胞线粒体超氧化物水平的影响

Fig 5 The effect of EV71 infection on mitochondrial superoxide levels in U251 cells detected by MitoSOX staining

差异有统计学意义($P < 0.01$)。提示EV71可诱导细胞内线粒体活性氧的产生。

3 讨论

诸多研究报道, 线粒体动力学的异常是一些疾病的致病因素, 包括中枢神经系统和外周神经系统疾病^[12-13], 尤其在神经退行性疾病中研究较多^[14-15]。近年来, 病毒感染过程中线粒体动力学的变化日益受到关注, BARBIER等^[16]研究报道, 登革热病毒感染Huh7细胞后可抑制Drp1的诱导的线粒体分裂, 促进病毒复制。KECK等^[17]发现委内瑞拉脑膜炎病毒感染恶性胶质瘤细胞后, 可促进Drp1介导的线粒体分裂, 从而诱导细胞凋亡。KIM等^[18]研究发现HCV感染Huh 7细胞可刺激Drp1的表达, 导致线粒体分裂增加; 而后YOU等^[19]研究表明HCV感染原代肝细胞后, 其线粒体ATP合成减少, 膜电位降低。HIV感染HPNs细胞后, 可诱导Drp1易位, 加速线粒体分裂, 膜电位降低^[20]。

虽然病毒与线粒体动力学相关研究逐渐兴起, 但目前关于引起神经性疾病的病毒和线粒体动力学的研究却少见。有文献报道, 线粒体过度分裂或融合可以导致神经元突触功能障碍和死亡^[21-22]。那么嗜神经性病毒是否通过影响线粒体动力学从而损伤神经细胞呢? 我们的研究发现: EV71可使线粒体形态发生延长, 降低Drp1、Opa1表达, 升高p-Drp1(S637)的表达, 并且增加线粒体ROS的产生, 降低ATP的生成。但有趣的是, Opa1是调节线粒体内膜融合的重要蛋白, 但在本实验结果中, 线粒体

形态延长, Opa1蛋白表达却降低, 与文献报道相反^[23-24]。究其原因, 我们认为主要有2个方面: 一是在线粒体的分裂融合动态平衡中, 线粒体分裂减少或融合增加均能导致线粒体延长。我们发现EV71感染U251细胞后Drp1减少, p-Drp1(S637)升高, 这可能是线粒体分裂减少而致其延长的原因之一。二是Opa1分子存在多种剪切体形式, 形成多种亚型, 在不同的细胞中表达和作用也不相同。其中受YME1L和OMA1蛋白酶在不同位点的剪切, 生成Opa1短蛋白(S亚型)和长蛋白(L亚型), S亚型主要诱导线粒体分裂, L亚型主要介导线粒体融合^[25-26]。这表明Opa1在不同的环境刺激下, 激活不同切割蛋白酶生成的蛋白会产生相反结果。本研究结果发现Opa1表达降低, 可能是EV71感染过程中S亚型Opa1的表达减少, 诱导线粒体分裂的能力减弱, 因此导致线粒体延长。

线粒体动力学的改变总伴随线粒体功能障碍, 干预线粒体动力学平衡, 有望改善线粒体的形态和功能^[27-28]。WANG等^[29]研究报道, 使用Mdivi-1可抑制阿尔茨海默病小鼠神经元线粒体的过度分裂, 改善线粒体膜电位和ATP水平, 减少淀粉样蛋白的病理改变。RANA等^[30]研究发现诱导中年期果蝇的Drp1过表达7 d后, 可改善线粒体功能, 提高ATP的产生, 降低ROS的水平, 延长果蝇的寿命。那么, 干预线粒体融合和分裂的过程, 是否会改善EV71感染U251细胞线粒体形态和功能, 从而减轻细胞的损伤呢? 这有待于进一步研究, 以期EV71所致神经性疾病的靶点的开发提供新思路。

综上所述, 本研究结果表明, EV71感染人神经胶质瘤U251细胞可使线粒体延长, 线粒体动力学失衡, 线粒体功能障碍, 从而导致细胞损伤, 这可能是EV71引发中枢神经病变的机制之一。

参 考 文 献

- [1] SOLOMON T, LEWTHWAITE P, PERERA D, *et al.* Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10(11): 778-790.
- [2] KIM H J, HYEON J Y, HWANG S, *et al.* Epidemiology and virologic investigation of human enterovirus 71 infection in the Republic of Korea from 2007 to 2012: a nationwide cross-sectional study. *BMC Infect Dis*, 2016, 16(1): 425.
- [3] MIZUTA K, AOKI Y, MATOBA Y, *et al.* Molecular epidemiology of enterovirus 71 strains isolated from children in Yamagata, Japan, between 1990 and 2013. *J Med Microbiol*, 2014, 63(10): 1356-1362.
- [4] GU Y Y, SHI K, YAO S, *et al.* Morphological characteristics of fatal pediatric hand, foot and mouth disease: a clinicopathological study with related receptors of EV71. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(9): 1144-1151.
- [5] HORWOOD P F, ANDRONICO A, TARANTOLA A, *et al.* Seroepidemiology of human enterovirus 71 infection among Children, Cambodia. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22(1): 92-95.
- [6] KHACHO M, SLACK R S. Mitochondrial dynamics in the regulation of neurogenesis: from development to the adult brain. *Dev Dyn*, 2018, 247(1): 47-53.
- [7] BAEK S H, PARK S J, JEONG J I, *et al.* Inhibition of Drp1 ameliorates synaptic depression, A β deposition, and cognitive impairment in an Alzheimer's Disease Model. *J Neurosci*, 2017, 37(20): 5099-5110.
- [8] FILICCHIA E, HOFFER B, QI X, *et al.* Inhibition of Drp1 mitochondrial translocation provides neural protection in dopaminergic system in a Parkinson's disease model induced by MPTP. *Sci Rep*, 2016, 6:32656[2019-09-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5020318/>. doi:10.1038/srep32656.
- [9] WANG H, YI J, LI X, *et al.* ALS-associated mutation SOD1G93A leads to abnormal mitochondrial dynamics in osteocytes. *Bone*, 2018, 106: 126-138.
- [10] JOSHI A U, EBERT A E, HAILESELASSIE B, *et al.* Drp1/Fis1-mediated mitochondrial fragmentation leads to lysosomal dysfunction in cardiac models of Huntington's disease. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 127: 125-133.
- [11] RAMAKRISHNAN M A. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. *World J Virol*, 2016, 5(2): 85-86.
- [12] ZHOU H, ZHANG Y, HU S, *et al.* Melatonin protects cardiac microvasculature against ischemia/reperfusion injury via suppression of mitochondrial fission-VDAC1-HK2-mPTP-mitophagy axis. *J Pineal Res*, 2017, 63(1): e12413 [2019-09-05]. <https://doi.org/10.1111/jpi.12413>.
- [13] JACKSON J G, ROBINSON M B. Regulation of mitochondrial dynamics in astrocytes: mechanisms, consequences, and unknowns. *Glia*, 2018, 66(6): 1213-1234.
- [14] FLIPPO K H, STRACK S. Mitochondrial dynamics in neuronal injury, development and plasticity. *J Cell Sci*, 2017, 130(4): 671-681.
- [15] ZHU X, PERRY G, SMITH M A, *et al.* Abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2013, 33 Suppl 1: S253-S262.
- [16] BARBIER V, LANG D, VALOIS S, *et al.* Dengue virus induces mitochondrial elongation through impairment of Drp1-triggered mitochondrial fission. *Virology*, 2017, 500: 149-160.
- [17] KECK F, BROOKS-FAULCONER T, LARK T, *et al.* Altered mitochondrial dynamics as a consequence of Venezuelan Equine encephalitis virus infection. *Virulence*, 2017, 8(8): 1849-1866.
- [18] KIM S J, SYED G H, KHAN M, *et al.* Hepatitis C virus triggers mitochondrial fission and attenuates apoptosis to promote viral persistence. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(17): 6413-6418.
- [19] YOU D G, LEE H R, KIM W K, *et al.* Hepatitis C virus p7 induces mitochondrial depolarization of isolated liver mitochondria. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6): 9533-9538.
- [20] TEODOROF-DIEDRICH C, SPECTOR S A. Human immunodeficiency virus type 1 gp120 and tat induce mitochondrial fragmentation and incomplete mitophagy in human neurons. *J Virol*, 2018, 92(22): e00993-18[2019-09-08]. <https://doi.org/10.1128/JVI.00993-18>.

- [21] PAL A D, BASAK N P, BANERJEE A S, *et al.* Epstein-Barr virus latent membrane protein-2A alters mitochondrial dynamics promoting cellular migration mediated by Notch signaling pathway. *Carcinogenesis*, 2014, 35(7): 1592–1601.
- [22] BERTHOLET A M, DELERUE T, MILLET A M, *et al.* Mitochondrial fusion/fission dynamics in neurodegeneration and neuronal plasticity. *Neurobiol Dis*, 2016, 90: 3–19.
- [23] KIM S J, KHAN M, QUAN J, *et al.* Hepatitis B virus disrupts mitochondrial dynamics: induces fission and mitophagy to attenuate apoptosis. *PLoS Pathog*, 2013, 9(12): e1003722[2019-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3855539/10.1371/journal.ppat.1003722>. doi: 10.1371/journal.ppat.1003722.
- [24] AVDOSHIINA V, FIELDS J A, Castellano P, *et al.* The HIV protein gp120 alters mitochondrial dynamics in neurons. *Neurotox Res*, 2016, 29(4): 583–593.
- [25] ANAND R, WAI T, BAKER M J, *et al.* The i-AAA protease YME1L and OMA1 cleave OPA1 to balance mitochondrial fusion and fission. *J Cell Biol*, 2014, 204(6): 919–929.
- [26] LEE H, SMITH S B, YOON Y. The short variant of the mitochondrial dynamin OPA1 maintains mitochondrial energetics and cristae structure. *J Biol Chem*, 2017, 292(17): 7115–7130.
- [27] VALENTI D, ROSSI L, MARZULLI D, *et al.* Inhibition of Drp1-mediated mitochondrial fission improves mitochondrial dynamics and bioenergetics stimulating neurogenesis in hippocampal progenitor cells from a Down syndrome mouse model. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(12): 3117–3127.
- [28] SERASINGHE M N, CHIPUK J E. Mitochondrial fission in human diseases. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, 240: 159–188.
- [29] WANG W, YIN J, MA X, *et al.* Inhibition of mitochondrial fragmentation protects against Alzheimer's disease in rodent model. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(21): 4118–4131.
- [30] RANA A, OLIVEIRA M P, KHAMOUI A V, *et al.* Promoting Drp1-mediated mitochondrial fission in midlife prolongs healthy lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 448.

(2019 – 10 – 17收稿, 2019 – 12 – 26修回)

编辑 吕 熙