

引用:杨艳红,李立,吴若霞,胡方林. 基于 Parkin 信号通路研究加味丹参饮对缺氧复氧心肌细胞线粒体自噬的影响[J]. 湖南中医杂志,2022,38(6):174-178.

基于 Parkin 信号通路研究加味丹参饮对缺氧复氧心肌细胞线粒体自噬的影响

杨艳红,李立,吴若霞,胡方林
(湖南中医药大学中医学院,湖南长沙,410208)

[摘要] 目的:通过体外建立大鼠心肌细胞缺氧复氧(HR)损伤模型,观察加味丹参饮(JWDS)能否通过激活 Parkin 蛋白介导的线粒体自噬而发挥对缺血再灌注心肌的保护作用。方法:将 H9C2 心肌细胞传代培养后,随机分为 5 组,分别为正常对照组(NG)、模型组(HRG)、模型组+空白血清处理组(BSG)、模型组+加味丹参饮含药血清组(JWDSG)、模型组+加味丹参饮含药血清+Mdivi-1 组(JDMG),应用免疫印迹法比较各组心肌细胞内 Parkin 蛋白、Beclin-1 蛋白的表达情况。结果:与 NG 组比较,HRG、BSG、JDMG、JWDSG 的 Parkin、Beclin-1 蛋白表达均有所升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与 BSG、JDMG 组比较,JWDSG 的 Parkin、Beclin-1 蛋白表达升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);HRG、BSG、JDMG 3 组之间,以上 2 项指标比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论:加味丹参饮可能通过调控 Parkin 蛋白通路,激活线粒体自噬相关蛋白,发挥减轻心肌缺血再灌注损伤的作用。

[关键词] 缺氧复氧损伤;加味丹参饮;线粒体自噬;Parkin 通路;实验研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:**10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2022.06.041

Effect of Jiawei Danshen decoction on mitophagy in cardiomyocytes with hypoxia/reoxygenation injury: A study based on the Parkin signaling pathway

YANG Yanhong, LI Li, WU Ruoxia, HU Fanglin

(College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To establish a rat cardiomyocyte model of hypoxia/reoxygenation injury in vitro, and to investigate whether Jiawei Danshen decoction (JWDS) can exert a protective effect against hypoxia/reoxygenation injury in myocardium by activating mitophagy mediated by Parkin protein. Methods: H9C2 cardiomyocytes after subculture were randomly divided into normal control group (NG group), model group (HRG) group, model+blank serum treatment group (BSG group), model+serum containing JWDS group (JWDSG group), and model+serum containing JWDS+Mdivi-1 group (JDMG group), and Western blotting was used to compare the protein expression of Parkin and Beclin-1 in cardiomyocytes between groups. Results: Compared with the NG group, the HRG, BSG, JDMG, and JWDSG groups had significant increases in the protein expression of Parkin and Beclin-1 ($P<0.05$), and compared with the BSG and JDMG groups, the JWDSG group had significant increases in the protein expression of Parkin and Beclin-1 ($P<0.05$), while there were no significant differences in these indices between the HRG, BSG, and JDMG groups ($P>0.05$). Conclusion: JWDS can alleviate ischemia/reoxygenation injury in myocardium by regulating the Parkin pathway and activating mitophagy-related proteins.

[Keywords] hypoxia/reoxygenation injury; Jiawei Danshen decoction; mitophagy; Parkin pathway; experimental study

第一作者:杨艳红,女,医学硕士,讲师,研究方向:中医内科学
通信作者:胡方林,男,医学博士,教授,博士研究生导师,研究方向:中医内科学,E-mail:970679945@qq.com

心血管疾病是危害人类健康的一大疾病,而缺血性心脏病是最常见的临床表现类型,当前除使用口服药物控制病情进展外,溶栓和再灌注疗法也是得到医学界普遍认同的治疗策略,可以有效使缺血的心肌恢复血流,减轻心肌细胞的损伤及死亡。但再灌注疗法可能加重缺血期已存在的心肌细胞功能障碍,导致缺血再灌注损伤(MIRI)^[1]。

细胞有其自身的自噬机制,通过此机制有选择地清除掉受损的线粒体,以减轻细胞的损伤,这一过程称为线粒体自噬,对细胞的生长和代谢具有重要作用^[2-3]。在正常生理状态下,线粒体自噬可以发挥保护心肌细胞的作用,当心肌细胞的功能被破坏时,线粒体自噬会被过度激活,使结构和功能紊乱而导致过度清除细胞内的线粒体,加重了心肌细胞死亡和心肌病^[4]。E3 泛素连接酶(Parkin)通路作为清除受损线粒体最经典和最主要的通路,在线粒体膜电位下降等刺激下,通过调控 Parkin、p62 等蛋白表达,维护细胞内环境稳态^[5]。因此,本实验以 Parkin 通路介导的线粒体自噬为切入点,通过体外建立缺氧复氧(HR)心肌细胞模型,观察加味丹参饮对于 HR 心肌细胞线粒体自噬及相关蛋白表达的影响,以进一步阐述加味丹参饮治疗 MIRI 的实验依据,丰富“益气活血”治法的科学内涵。

1 实验材料

1.1 动物 H9C2 大鼠心肌细胞,购自上海中乔新舟生物科技有限公司。SPF 级雄性 SD 大鼠 20 只,体质量(200±20)g,由湖南中医药大学动物实验中心提供,动物合格证号:SCXK(湘)2019-0004。

1.2 药物与试剂 1)主要药物。加味丹参饮(JWDS),由益气活血化瘀中药组成,采购于湖南中医药大学第一附属医院中药房。复测药物质量后将其混匀,加入蒸馏水浸泡 30 min,再按照 W/V=1/8 量加水煎煮 2 次(檀香后下),合并煎液,过滤,浓缩成含生药 2 g/ml 的水煎液,室温冷却后置于 20℃ 冰箱内保存备用。2)主要试剂。水合氯醛 250 g、过硫酸铵(APS)、Tween-20、丽春红染色液、无水乙醇(上海国药集团化学试剂有限公司),兔抗大鼠多克隆抗体 Beclin 1、兔抗大鼠多克隆抗体 Parkin、HRP goat anti-rabbit IgG 二抗(美国 Proteintech Group 公司),胎牛血清(FBS,美国 Gibco 公司)。

1.3 主要仪器 直热式二氧化碳(CO₂)培养箱(上海三藤仪器有限公司),低速离心机(上海知信实验仪器技术有限公司),台式冷冻离心机(湖南湘仪实验仪器开发有限公司),多功能酶标分析仪等(深圳市汇松科技发展有限公司)。

2 实验方法

2.1 加味丹参饮含药血清制备 按随机数字表法将 20 只大鼠分为空白血清组和含药血清组,每组各 10 只。所有大鼠经过 3 d 适应性饲养后,每天定时于上午 10 时和下午 4 时分组依次灌服加味丹参饮水煎液及等量 0.9%氯化钠注射液,采用成人 4 倍量给药[大鼠剂量=成人常用量(g)×人鼠换算系数 0.018/大鼠体质量(kg),其中按成人常用量 86 g,大鼠体质量 200 g 换算,每天给药量为 30.96 g/kg],分 2 次灌服,持续 7 d。采血前需要禁止饮用食物和水至少 12 h,末次给药 1 h 后,使用水合氯醛腹腔麻醉,并在无菌环境下于腹主动脉插管采血,室温环境下静置 2 h,当血液上清析出后,使用离心机以 3000 r/min 的速度离心 15 min,所得的上清液即所需的含药血清和空白血清,将本组血清汇合后于 56℃ 水浴灭活 30 min,采用孔径为 0.22 μm 的微孔滤膜过滤除菌,每组分 3 管,每管分装 7 ml,编号标记,最后放入-20℃ 的冰箱内保存备用。

2.2 缺氧复氧心肌细胞模型的建立

2.2.1 细胞培养及传代 将 H9C2 大鼠心肌细胞接种于面积为 25 cm² 的透气培养瓶中,然后加入含有 4.5 g/L 的高糖分型 DMEM 培养基,再添加含有 10% 的胎牛血清以及浓度为 1% 青霉素、链霉素(双抗)混合溶液,将培养瓶放置于恒温培养箱中,于温度为 37℃、含 5% 体积分数 CO₂ 的饱和湿度条件下进行细胞培养,每隔 1 d 更换相同成分的培养液。与此同时紧密观察细胞的生长状况,当细胞生长状态成为单层、汇合率达 80%~90% 时,用 PBS 缓冲液清洗已去掉旧培养液的细胞 2~3 次,用含量为 0.25% 的胰蛋白酶消化液收集细胞,制作成单细胞混悬液,持续 30 s 后消化过程完毕,消化液丢弃后加入新鲜的培养液继续培养,每 2~3 d 进行一次传代培育,因 2~3 代更为稳定,故选用第 2、3 代细胞。根据实验具体分组的需求,选取处在对数生长期的适当数量细胞进行后续实验。

2.2.2 细胞冻存及复苏 挑选处于对数生长期形

态饱满的细胞,用磷酸缓冲液(PBS)溶液清洗已弃掉上清后的细胞至少3次,再用胰酶消化液消化30s,弃液后添加少许培养基,停止消化,将培养基悬起,轻吹、轻拍数次后,将细胞转送至离心管内行离心操作,摒弃上清,添加配置好的10%二甲基亚砷(DMSO)冻存液,两者混合均匀,等量分装到各个冷冻管中,标记管内细胞的代数及制作时间,在 -80°C 的冰箱里留存静置16h后,转移到液氮罐中储存备用。需要复苏细胞时,将其从液氮罐中取出,并立刻放置于 37°C 的水浴锅中,期间可不断甩动使管内细胞溶液得到充分融化,随后再一次离心,清除上清液后添加培养液混匀接种备用。

2.2.3 建立HR细胞模型 遵照《药理实验方法学》^[6]及物理建模方式安宁包厌氧法建立HR细胞模型^[7]。将心肌细胞用空白及含药血清预先培养24h后,启用无血清、无糖型DMEM培养基,开启密封盒,其内放置待处理的细胞培养基与厌氧安宁包,施行氧糖剥夺处理,缺氧6h后,丢弃掉旧的培养基,再次予以添加含有10%的胎牛血清以及浓度为1%的青霉素、链霉素(双抗)混合溶液,本次处置时,加入含有($<1.0\text{ mg/L}$)的低糖分型DMEM培养基,放置在恒温培养箱中,于温度为 37°C 、含5% CO_2 的饱和湿度条件下进行复氧处理,复氧4h后,HR细胞模型建立完成。

2.3 细胞分组与给药 取用培养状态良好的对数生长期的心肌细胞,依照不同的处理因素,随机将其分成5组,以 1×10^5 个/ml的数量接种在无菌6孔板上。1)正常对照组(NG):H9C2细胞不加以任何处理;2)模型组(HRG):无血清预处理步骤,直接将H9C2细胞采取厌氧安宁法施行氧糖剥夺6h,复氧4h的模型建立步骤;3)模型组+空白血清处理组(BSG):H9C2细胞在含有15%空白血清的培养液中常规培养24h后,改换培养液,再行厌氧安宁法氧糖剥夺6h,复氧4h;4)模型组+含药血清处理组(JWDSG):H9C2细胞在含有15%的JWDS含药血清的培养液中常规培养24h后,其余步骤同BSG。HR模型组+15%含药血清+线粒体自噬抑制剂(Mdivi-1)处理组(JDMG):将H9C2细胞中加入 $1\text{ }\mu\text{mol/L}$ Mdivi-1抑制剂预处理4h后,其余步骤同BSG。

2.4 指标观察与检测 采用免疫印迹法检测各组

细胞内 Parkin 信号通路蛋白、自噬相关蛋白 Beclin-1 的表达情况。

2.4.1 细胞蛋白的提取 首先弃去5组细胞培养瓶中的液体,通过使用移液枪少量多次吸取瓶底边缘,确认培养瓶中完全干净无残留液体。预冷PBS溶液的同时,可提前启动离心机,使其预冷至低温状态,用预冷后的PBS溶液清洗细胞,将5个培养瓶中都加入相同含量的溶液,放置于同一平面上,双手缓缓摇动瓶身,反复2次该过程,每次重复时间为1min,随后丢弃使用过的PBS溶液,把已添加了200 μl 含有RIPA裂解液的培养瓶放置在冰上,使细胞获得充分的裂解效果,其间要不断在冰面上平移晃动培养瓶10min以上,30min为宜,或在加入裂解液后,刮刀收集细胞悬液,超声破碎90s后冰上裂解;当裂解过程完毕后,细胞仍分散在溶液中,这时使用刮刀将细胞一点点收集,方便利用移液枪将细胞转移至离心管,离心机维持 4°C ,以12000 r/min的速度离心15min,离心结束后,将每管的上清液即蛋白逐一分装至0.5ml离心管里,按组别标号后于 -80°C 储存。

2.4.2 蛋白浓度的检测 采用BCA法检测样本蛋白浓度,按照蛋白定量试剂盒中的说明书步骤完成。首先要确保BCA工作液在24h内的室温稳定状态,遵照50体积BCA试剂A加1体积BCA试剂B,即50:1的比例稀释配置BCA工作液,2种试剂充分混匀。用RIPA裂解液按照50%的梯度完全溶解蛋白标准品,确定为2mg/ml的浓度,各个梯度浓度的稀释标准品和空白组每样25 μl 分别添加到96孔板的标准品孔中,把5组待检测样本各提取5 μl 置于孔板内,按次序每组再补充20 μl PBS溶液,使标准品和样品配置的比例液体量相等。各个待测孔均加入200 μl BCA工作液,环境温度 37°C 下,所有蛋白样本孵育30min,酶标仪测定550nm之间波长的吸光值(OD),根据标准曲线计算法判断5组蛋白样本的浓度。

2.4.3 蛋白表达的检测 采用免疫印迹法检测蛋白表达。1)制作凝胶。先将制胶载体玻璃板用质地温和的表面活性剂清理干净,再在流水下冲洗,室温下确保玻璃板两面都自然风干后备用,玻璃板晾干后可以开始配制分离胶。本次参照说明书选择配制8%、10%的分离胶,加入催化剂四甲基乙二

胺(TEMED)后需要立即将其混合均匀,稳定好玻璃板后开始灌胶,操作要平稳匀速。灌胶时需要注意的是,在保证速度的同时要确定胶沿玻璃板一路流下,否则胶里会产生气泡。当快到达所需高度时,速度可适当减慢,灌完后用异丙醇封胶。胶开始凝固的表现是当微微倾斜制胶器而分界线不再变动时再等候 3 min,胶体得到充分凝固后倒去上层的异丙醇,确保其中的水分已被滤纸吸干。浓缩胶配置比例为 4.8%,与分离胶一样,加入 TEMED 后立即摇匀,把齿梳呈水平方向插进玻璃板中,剩余空间全部灌满浓缩胶,凝固后捏住梳子两头慢慢拔出,流水冲净后放入电泳槽。2)电泳。在此之前先计算上样量,准备蛋白样品,取 100 μ l 蛋白上清,加入上样缓冲液,配置 25 μ l 5 * loading buffer,混匀上清和缓冲液,沸水煮 5 min,取出后迅速放入冰盒冷却;依据蛋白定量结果,在第一孔点加入 marker 2 μ l,其他每个空依次加入体积量为 20 μ l 已变性蛋白样本至泳道中;检查电泳设备齐全,连接电源,开始电泳,恒定电压 75V 下电泳 130 min,电泳结束的标准是溴酚蓝在凝胶底部呈现。3)转膜。准备 1 个已添加好电转液的容器,取出所有电泳后的胶,放置其中,切除无蛋白存留的胶,裁剪出留有蛋白的地方,测量其维度并加以记录。这些数值用于筹备与胶同等大小的 3 张滤纸和 1 张硝酸纤维素膜(NC 膜),NC 膜在使用之前,要先用乙醇处理,浸泡 2 min 即可,NC 膜与滤纸一起放入转膜缓冲液中,至完全浸透。随后,按照 3 张滤纸、NC 膜、胶、另外 3 张滤纸的次序依次放好。在取出时避免胶干燥,滤纸、胶和膜都要保证边缘对齐,每放一层都使用玻璃棒来回滚动驱除其中的气泡。盖上仪器,接通电源,开始转移,设置 200 mA 恒定电流,约 55 min 后取出甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH),约 80 min 后取出 Parkin、Beclin-1 夹板。转膜完毕后,取出 NC 膜,放入 1 * PBST 缓冲液中清洗 10 min,在稳定的 pH 值下减少破坏膜上蛋白和抗体的稳定性。4)封闭及孵育。用 1 * PBST 调配出 5%脱脂奶粉液体,将取出的膜浸入奶粉液,可放置在摇床上缓缓摇动,室温放置 90 min 封闭。将使用 1 * PBST 已按比例稀释好的一抗(具体比例为 Beclin-1:1:2000, Parkin:1:1000,内参:1:5000)和封闭完成的膜一起在孵育器皿中孵育,放置于 4℃的冰箱中过夜,孵育

结束后,取出器皿,室温放置 30 min。用 1 * PBST 清洗带有一抗的 NC 膜 3 遍,每遍需持续 15 min。再分别用 1 * PBST 稀释辣根过氧化物酶(HRP)酶标的二抗(比例为 1:6000),将稀释后的二抗与膜共同放入器皿中室温孵育 90 min。孵育结束,1 * PBST 重复清洗 3 次,每次 10 min。5)显色曝光。将暗房里按照 1:1 的比例调配好增强化学发光液的 A 液与 B 液,与膜避光孵育 1 min,滤纸吸干净液体,用塑封膜将膜包裹杂交膜,在暗盒内与 X 胶片曝光 1 min;显影后冲洗图片。用 Image J 软件分析蛋白条带的灰度值。

2.5 统计学方法 通过 SPSS 26.0 数据分析平台进行正态性检验及方差分析,各项计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多样本均数比较采用单因素方差分析(ANOVA),两两比较,方差齐者使用 LSD 法,方差不齐者用 Dunnett-t 检验法,若不满足正态性分布,则采用非参数检验,运用 Kruskal-Wallis H 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 实验结果

各组心肌细胞内 Parkin 蛋白、Beclin-1 蛋白表达水平比较:与 NG 比较,HRG、BSG、JDMG、JWDSG 的 Parkin、Beclin-1 蛋白表达均有升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与 BSG、JDMG 组比较,JWDSG 的 Parkin、Beclin-1 蛋白表达升高,差异有统计学意义($P<0.05$);HRG、BSG、JDMG 3 组之间,以上 2 项指标比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。(见表 1、图 1)

表 1 各组心肌细胞内 Parkin 蛋白、Beclin-1 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

指标	个数	灰度值				
		NG	HRG	BSG	JDMG	JWDSG
Parkin	3	0.18 $\pm$ 0.03	0.54 $\pm$ 0.07 ^a	0.51 $\pm$ 0.08 ^a	0.54 $\pm$ 0.12 ^a	0.77 $\pm$ 0.06 ^{abc}
Beclin-1	3	0.16 $\pm$ 0.04	0.55 $\pm$ 0.06 ^a	0.54 $\pm$ 0.09 ^a	0.53 $\pm$ 0.05 ^a	0.78 $\pm$ 0.06 ^{abc}

注:与 NG 比较,^a $P<0.05$;与 HRG 比较,^b $P<0.05$;与 JD-MG 比较,^c $P<0.05$ 。

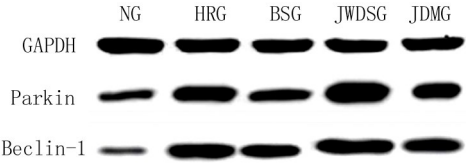


图 1 各组心肌细胞内 Parkin 蛋白、Beclin-1 蛋白表达情况

4 讨 论

细胞的正常生理活动是多因素协调下的结果,线粒体自噬是其中非常重要的一项活动之一,其像一台精密智能的仪器一样,可以识别出功能不完备、受到损伤的线粒体,把控线粒体的质量及数量,使其他生理活动得以继续进行^[8]。研究者们逐渐发现,线粒体自噬与机体的生命活动紧密关联,从神经系统疾病、内分泌系统疾病、肿瘤、炎症损伤、MIRI到人体的衰老过程,无一不参与^[9]。在哺乳动物中,调控线粒体自噬的途径主要有 PINK1/Parkin、BNIP3/NIX 和 FUNDC1/内质网蛋白抗增殖蛋白等,它们并不是独立存在的,各个信号通路间均相互影响^[10]。在脑细胞和肌肉细胞中, Parkin 蛋白的表达非常丰富,由此也可以推断,脑细胞和心肌细胞受到损伤时, Parkin 蛋白的水平将会上调。 Parkin 蛋白是一种 E3 泛素连接酶,当检测到线粒体受到外来损伤而不能正常活动时, Parkin 蛋白会去修复这些功能不完整的线粒体外膜蛋白,这项修复功能不能独立完成,需要同时包含 E1 和 E2 泛素化的协同作用,蛋白胞质中转移到线粒体外膜上,方能进行这一过程^[11]。正常生理状况下的线粒体自噬在心肌细胞正常生命活动中无法被别的细胞器功能所替代,保护心肌就是其在心肌缺血阶段的重要任务,当线粒体的自噬失调时,各种心肌病变随之产生。另一项重要的蛋白调节因子 Beclin-1,它的存在与否直接判定自噬是否真实发生,如果线粒体自噬被激活,那么 Beclin-1 的表达就必然逐步上调,两者呈正相关^[12]。

本次研究中,通过建立心肌细胞的体外 HR 模型,检测蛋白表达,发现模型组 Parkin 蛋白的表达量升高,这表明了该蛋白通路在细胞损伤时被激活,并且在含有加味丹参饮含药血清的组别中,蛋白表达量较损伤时进一步升高,同时被调动起来的还有 Beclin-1 蛋白,表明加味丹参饮可能通过 Parkin 通路激活线粒体自噬。在 JDMG 中,线粒体的自噬过程被抑制,损伤加重,但同时该组中又含有加味丹参饮含药血清,猜测其可能是加味丹参饮调节了一部分线粒体自噬,这 2 种药物的作用相互抵消,使得该组中细胞的结构变化和蛋白表达量未能与 HRC 产生较大改变。

本实验中使用的加味丹参饮为丹参饮去砂仁,

将四物汤中的白芍改为赤芍,再加黄芪、红花而成,主要针对病机为气滞血瘀所致的心痛。方中丹参、黄芪用量最大,可活血、益气,为君药。生地黄、赤芍、当归、川芎为臣药,其中赤芍力强,破血脉中凝滞之血;当归与生地黄增强补血活血、益气止痛之功;当归和川芎同用,乃“气为血师,血为气之母”之意。佐以小剂量红花、檀香养血活血、调理心气。全方标本同治,不仅遵守了益气活血的治疗准则,同时能兼顾后期的调养。该实验表明加味丹参饮可能通过调控 Parkin 蛋白通路,激活线粒体自噬相关蛋白,从而发挥减轻 MIRI 的作用。

参考文献

- [1] PANAGIOTIS G KORANTZOPOULOS, JOHN GOUDENOS. Myocardial reperfusion injury [J]. New England Journal of Medicine, 2007, 357(11): 2409-2410.
- [2] BUENO MARTA. PINK1 deficiency impairs mitochondrial homeostasis and promotes lung fibrosis [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2015, 125(2): 521-538.
- [3] MURROW L, DEBNATH J. Autophagy as a stress response and quality control mechanism; Implications for cell injury and Human Disease [J]. Annu Rev Pathol Mech, 2013, 8(1): 105-137.
- [4] 赵雨薇, 付建华, 李磊, 等. 中药通过线粒体自噬保护缺血心肌的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(6): 210-217.
- [5] 唐丽莎, 张春玲, 邸铁涛, 等. Pink1/Parkin 通路影响糖尿病足溃疡愈合的研究进展 [J]. 贵阳中医学院学报, 2019, 41(5): 85-88.
- [6] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [7] 杜毓菁, 徐一心, 王紫璇, 等. 细胞缺氧/复氧模型的建立方法与应用 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2015, 55(2): 88-91.
- [8] SU MELSER, JULIE LAVIE, GIOVANNI BÉNARD. Mitochondrial degradation and energy metabolism [J]. BBA-Molecular Cell Research, 2015, 1853(10): 2812-2821.
- [9] UM JEE HYUN, YUN JEANHO. Emerging role of mitophagy in human diseases and physiology [J]. BMB Reports, 2017, 50(6): 299-307.
- [10] SEKINE S, YOULE RJ. PINK1 import regulation; a fine system to convey mitochondrial stress to the cytosol [J]. BMC Biol, 2018, 16(1): 2-12.
- [11] KOYANO F, YAMANO K, KOSAKO H, et al. Parkin recruitment to impaired mitochondria for nonselective ubiquitylation is facilitated by MITOL [J]. Biol Chem, 2019, 294(26): 10300-10314.
- [12] BOYD JM, MALSTROM S, SUBRAMANIAN T, et al. Denovirus E1B 19 kDa and Bcl-2 proteins interact with a common set of cellular proteins [J]. Cell, 1994, 79(2): 341-351.

(收稿日期: 2021-10-16)