

综述

线粒体自噬相关受体蛋白研究进展

马穰桂^{1, #}, 夏志^{2, 3, #}, 尚画雨^{1, *}

¹成都体育学院运动医学与健康学院, 成都 610041; ²温州大学体育与健康学院, 温州 325035; ³井冈山大学体育学院, 吉安 343009

摘要: 细胞通过自噬方式选择性清除多余或损伤的线粒体, 是细胞内线粒体质量控制的重要机制。近期研究表明, 酵母细胞主要通过自噬相关基因(*Atgs*)调控线粒体自噬, 而哺乳动物细胞内则由PTEN诱导激酶1 (PTEN-induced putative kinase 1, PINK1)、NIX/BNIP3L、BNIP3、FUNDC1 (FUN14 domain containing 1)、FKBP8/FKBP38、Bcl-2样蛋白13 (Bcl-2-like protein 13, Bcl2L13)、含核苷酸结合结构域和富亮氨酸重复序列的蛋白家族成员X1 (NLRX1)、抗增殖蛋白(PHB2)等线粒体膜相关蛋白和心磷脂(cardiolipin, CL)等脂类作为介导线粒体自噬的关键受体而选择性识别受损的线粒体, 并通过与微管相关蛋白1轻链3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)或 γ -氨基丁酸受体相关蛋白(γ -aminobutyric acid receptor-associated protein, GABARAP)结合将其包裹在自噬体内, 最终被溶酶体降解清除。本文对线粒体自噬相关受体蛋白的近期研究进展进行综述。

关键词: 线粒体; 细胞自噬; 线粒体自噬; 受体

中图分类号: R3; Q4; Q5

Advances in the study of mitophagy-related receptor proteins

MA Rang-Gui^{1, #}, XIA Zhi^{2, 3, #}, SHANG Hua-Yu^{1, *}

¹*School of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu 610041, China;* ²*College of Physical Education and Health, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China;* ³*Physical Education College of Jinggangshan University, Ji'an 343009, China*

Abstract: Cells selectively scavenge redundant or damaged mitochondria by mitophagy, which is an important mechanism of mitochondrial quality control. Recent studies have shown that mitophagy is mainly regulated by autophagy-related genes (*Atgs*) in yeast cells, while mitochondrial membrane associated proteins such as PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1), NIX/BNIP3L, BNIP3, FUN14 domain containing 1 (FUNDC1), FKBP8/FKBP38, Bcl-2-like protein 13 (Bcl2L13), nucleotide binding domain and leucine-rich-repeat-containing proteins X1 (NLRX1), prohibitin 2 (PHB2) and lipids such as cardiolipin (CL) are the key mitophagic receptors in mammalian cells, which can selectively recognize damaged mitochondria, recruit them into isolation membranes by binding to microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) or γ -aminobutyric acid receptor-associated protein (GABARAP), and then fuse with lysosomes to eliminate the trapped mitochondria. This article reviews recent research progress of mitophagy-related receptor proteins.

Key words: mitochondrion; autophagy; mitophagy; receptors

Received 2021-01-27 Accepted 2021-05-06

Research from the corresponding author's laboratory was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31900842, 31960192), the Innovative Project of Institute of Sports Medicine and Health of Chengdu Sport University (No. CX21A01), the Jiangxi Provincial Science Fund for Distinguished Young Scholars (No. 20202ACBL216004), and the Jiangxi Provincial Natural Science Foundation (No. 20192BAB205081).

[#]These authors contributed equally to this review.

^{*}Corresponding author. E-mail: santanasan@163.com

线粒体是具有双层膜结构的细胞能量中心, 在调控细胞代谢、生物能量学、增殖和死亡等诸多方面发挥重要作用, 其完整性受到包括氧化应激、疾病、有害异物甚至衰老在内的各种外部与内部刺激的影响^[1]。受损的线粒体需要立即分离和选择性清除, 故线粒体自噬 (mitophagy) 被认为是维持线粒体稳态的重要机制之一。线粒体自噬是一种典型的选择性细胞自噬, 通过多种途径以特定的方式被严格调控和激活, 从而不断地核查线粒体的质量, 最终通过溶酶体靶向作用清除损伤的线粒体。然而, 线粒体自噬异常则可引起许多疾病 (如神经退行性疾病、癌症等) 的病理反应^[2]。随着医疗保健水平的提高以及对精准医学的需求不断增长, 学者们尤为关注发病机制中的关键因素, 越来越多的探索性研究致力于线粒体质量控制 (mitochondrial quality control, MQC) 在细胞病理生理学中的潜在保护作用, 而线粒体自噬亦成为生物医学研究热点之一^[3-5]。本文拟对线粒体自噬的近期研究进展进行梳理, 归纳酵母和哺乳动物细胞内介导线粒体自噬的受体蛋白调控机制, 并着重探讨新近发现的 FKBP8/FKBP38、含核苷酸结合结构域和富亮氨酸重复序列的蛋白家族成员 X1 (nucleotide binding domain and leucine-rich-repeat-containing proteins X1, NLRX1)、抗增殖蛋白 (prohibitin 2, PHB2) 和心磷脂 (cardiolipin, CL) 等线粒体自噬蛋白所参与的调控过程, 以期为线粒体自噬相关疾病的研究提供参考资料。

1 线粒体自噬概述

线粒体自噬是指在活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、营养缺乏、细胞衰老等应激作用下, 细胞内的线粒体出现去极化损伤, 损伤的线粒体被特异性包裹进入自噬体中并与溶酶体融合, 完成受损线粒体的降解, 从而维持细胞内环境稳定^[6]。线粒体自噬现象早在 1966 年即已在电镜观察哺乳动物肝细胞时被发现^[7]; 但直至 2005 年, 才由 Lemasters 等^[8]观察到线粒体膜电位降低和线粒体通透性转换孔开放能诱发线粒体自噬。

线粒体分裂、融合被认为发生在线粒体自噬之前, 受损线粒体分裂成两个线粒体, 其中膜电位较高的线粒体可通过与邻近的、完整的线粒体融合, 恢复其功能, 而膜电位较低的线粒体若不能及时被修复, 将通过自噬途径被降解清除^[6]。此外, 为适应机体代谢需求, 自噬引起的线粒体选择性减少与

线粒体生物合成互作, 从而保持线粒体数量的稳定。与自噬的细胞保护功能相一致的是, 若线粒体自噬被诱发, 则细胞凋亡将被抑制; 反之亦然^[9]。综上, 线粒体自噬、生物发生、融合和分裂、线粒体运动及修复机制均参与 MQC^[6], 其中线粒体自噬与其它机制密切互作, 在线粒体数量与功能的维持中具有至关重要的作用。线粒体自噬异常会引起许多病理改变, 继而可能导致阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)^[10]、帕金森症 (Parkinson's disease, PD)^[11] 和心衰^[12] 等疾病的发生。

2 酵母细胞中的线粒体自噬

酵母细胞中线粒体自噬分子机制的探索为后续哺乳动物细胞中线粒体自噬的研究奠定了基础。酵母细胞中的线粒体自噬主要依赖于自噬相关基因 (autophagy-related genes, Atgs) 的介导。受体蛋白 Atg32 定位于线粒体外膜 (outer mitochondrial membrane, OMM), 可与 Atg8 与 Atg11 互作, 协同介导酵母细胞中的线粒体自噬。线粒体受损后, Atg32 磷酸化激活并与 Atg11 形成 Atg32-Atg11 复合物, 进而募集 Atg8 以完成自噬体膜 (phagophore membrane) 的延长过程, 而蛋白激酶 CK2 和 Ppg1 对 Atg32 磷酸化分别发挥正性和负性调节作用; 另外, 由于 Atg32 的 N 端具有可与 Atg8 结合的 WXXL 样序列, 因此 Atg32 还能直接与 Atg8 互作以介导线粒体自噬^[13]。然而, 研究显示 Atg32 缺失并未对酵母细胞线粒体的生理功能造成影响^[14], 提示酵母细胞中还存在不依赖于 Atg32 的其它线粒体自噬途径。例如: Uth1 定位于 OMM, 在营养剥夺或雷帕霉素作用下介导线粒体自噬, 以供细胞代谢利用^[15]; 而 PP2C (phosphate 2C) 家族成员 Aup1 (ancient ubiquitous protein 1) 定位于线粒体膜间隙, 是一种蛋白磷酸酶类似物, 亦能选择性清除损伤的线粒体, 维持酵母细胞的正常呼吸活动^[16]。

3 哺乳动物细胞中的线粒体自噬

3.1 PTEN诱导激酶1 (PTEN-induced putative kinase protein 1, PINK1)介导的线粒体自噬

3.1.1 Parkin (Parkinson protein 2)依赖性途径

PINK1 和 Parkin 是两个 PD 相关蛋白, 近年来也被发现参与介导哺乳动物细胞线粒体自噬^[17]。研究证实, PINK1 是 Parkin 的上游调控蛋白, 二者协同介导了受损线粒体表面结构或功能蛋白的多聚泛

素化过程, 在去极化线粒体自噬降解中发挥关键作用^[17]。PINK1 蛋白在胞质内合成, 在正常线粒体中含量很低; 当线粒体去极化或损伤时, PINK1 大量累积在 OMM, 通过其 C 端的激酶区域上调自磷酸化水平和 / 或磷酸化修饰 Parkin 与泛素 (ubiquitin, Ub), 使 Parkin 从胞质转位至 OMM^[18]。随后, 在 E1 泛素激活酶和 E2 泛素结合酶协助下, Parkin 通过其 E3 连接酶活性连接活化的 Ub 和底物蛋白 (如电压依赖性阴离子通道和线粒体融合蛋白 1/2), 形成底物多聚泛素链 (poly-Ub)^[17, 19, 20]。此时, 泛素接头蛋白 p62/sequestosome-1 通过其 C 末端的泛素结合域募集到线粒体上, 并与泛素化蛋白结合, 再通过其 N 末端与 Atg8 同源蛋白微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3) 结合, 将泛素化蛋白聚集到一个新的自噬体内降解^[19]。因此, p62 是泛素化蛋白与自噬之间的适配器, 但 p62 的表达水平能否反映自噬激活至今尚存争议: Vaillant 等^[21]报道, 在 AD 小鼠海马线粒体中 LC3 蛋白表达明显上调, 同时 p62 蛋白表达显著下调, 提示 p62 表达减少或为自噬激活的标志; 然而 Song 等^[22]和 Shang 等^[23]分别在心肌细胞和骨骼肌细胞内观察到线粒体 LC3 和 p62 蛋白表达均明显增加, 这与 Vaillant 等^[21]的研究结果不一致。Puissant 等^[24]指出, p62 在转录和翻译后水平均受到复杂的调控, 其在自噬中的作用亦可能具有细胞类型特异性。目前研究证实, 介导泛素化线粒体与 LC3 之间互作的接头蛋白还包括视神经蛋白 (optineurin, OPTN)、核点蛋白 52 (nuclear dot protein 52, NDP52)、NBR1 (neighbour of BRCA1 gene 1) 和 TAX1 结合蛋白 1 (TAX1-binding protein 1, TAX1BP1)^[25]。此外, Strappazon 等^[26, 27]和 D'Acunzo 等^[28]研究显示, 在 Parkin 依赖的情况下, 胞质内自噬 / 苜蓿素 1 调节因子 1 (autophagy/beclin 1 regulator 1, AMBRA1) 可通过其 LC3 结合域 (LC3 interacting region, LIR) 与 LC3B 互作, 且这一过程对于增强 PINK1/Parkin 途径介导的线粒体自噬是必需的; 然而, 在不依赖于 Parkin 和 p62 的情况下, OMM 上的 AMBRA1 定位增加亦可通过其 LIR 氨基酸序列与 LC3B 蛋白互作, 使受损线粒体被自噬清除, 提示 AMBRA1 依赖性线粒体自噬途径的存在, 但其具体作用机制尚有待进一步研究予以阐明。

此外, PINK1/Parkin 还参与一种由线粒体内氧化还原失衡引起的非经典自噬途径。当线粒体轻度损

伤或只存在于较小区域, 观察到从线粒体损伤部位衍生出囊泡, 即 MDVs (mitochondria-derived vesicles), 其内含一些特定的蛋白, 可在 PINK1 协助下转运至溶酶体后被降解^[29]; 此外, 野生型 *Parkin* 有助于其生物发生, 而 PD 相关的 *Parkin* 基因突变干扰了这一过程, 据此 McLelland 等推测, PINK1-Parkin 依赖性转运机制的丧失可能会削弱线粒体选择性降解氧化受损蛋白的能力, 最终导致 PD 相关的线粒体功能障碍^[29]。研究显示, 在 AD 模型中过表达 PINK1 或 *Parkin* 均能介导损伤线粒体被自噬清除, 从而延缓 AD 的发展进程^[30, 31]。以上研究结果提示, 靶向促进或抑制 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬可能是防治神经退行性疾病的有效方法。

3.1.2 Parkin非依赖性途径(图1)

除 Parkin 外, 包括 GP78、smad 泛素化调节因子 1 (smad ubiquitination regulatory factor 1, SMURF1)、SIAH1 (seven in absentia homologue-1)、MUL1 (mitochondrial E3 ubiquitin ligase 1)、ARIH1 (ariadne-1 homolog) 和环指蛋白 34 (ring finger protein 34, RNF34) 等蛋白亦可作为 E3 泛素连接酶参与泛素型线粒体自噬过程^[32]。Lazarou 等^[25]研究显示, 在不依赖于 Parkin 的情况下, PINK1 可直接招募 OPTN 和 NDP52 至受损线粒体, 随后激活自噬起始因子 unc-51 样激酶 1 (unc-51 like kinase 1, ULK1)、DFCP1 (double FYVE containing protein 1) 和 WD 重复结构域磷酸肌醇互作蛋白 1 (WD repeat domain phosphoinositide interacting 1, WIPI1)。TANK 结合激酶 1 (TANK-binding kinase 1, TBK1) 亦可介导接头蛋白 OPTN、NDP52 和 p62 的磷酸化, 从而增加接头蛋白与 poly-Ub 的结合亲和力^[33]。此外, synphilin-1 (synuclein alpha-interacting protein) 过表达可介导 PINK1 在 OMM 上大量累积, PINK1-synphilin-1 复合物通过招募 SIAH-1 以加速损伤线粒体泛素化及自噬清除^[34], 提示 PINK1-synphilin-1-SIAH-1 可能为 Parkin 非依赖性线粒体自噬途径。

3.2 NIX/BNIP3L (BCL2/adenovirus E1B protein-interacting protein 3-like)、BNIP3、FUNDC1 (FUN14 domain containing 1)介导的线粒体自噬

NIX 与 BNIP3 定位于 OMM, 同属于抗凋亡 B 细胞淋巴瘤 -2 (B cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族中只含 BH3 结构域的亚家族, 二者具有 56% 同源性, 且 N 端均具有能与 LC3 结合的 WXXL 样氨基酸序列。其中, NIX 可与 LC3 及其同源物 γ -氨基丁酸

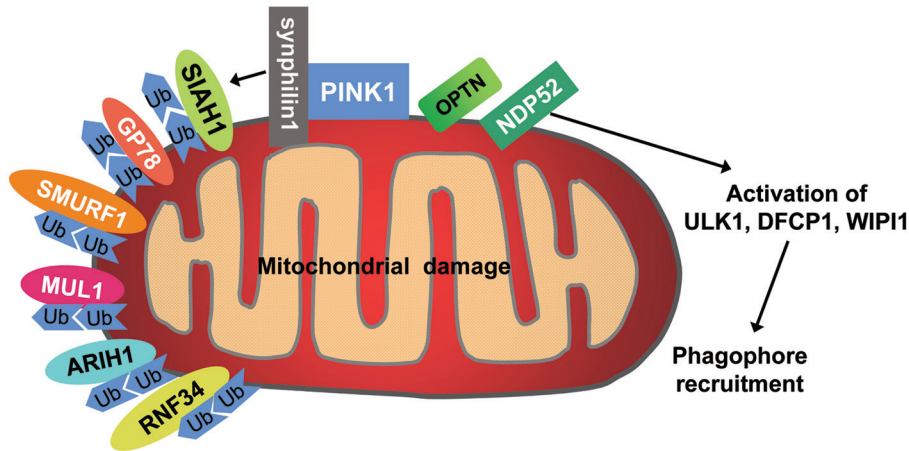


图 1. PINK1介导的Parkin非依赖线粒体自噬

Fig. 1. PINK1-mediated Parkin-independent mitophagy. Apart from Parkin, other E3-ubiquitin ligases, namely GP78, smad ubiquitination regulatory factor 1 (SMURF1), seven in absentia homologue-1 (SIAH1), mitochondrial E3 ubiquitin ligase 1 (MUL1), ariadne-1 homolog (ARIH1), and ring finger protein 34 (RNF34) also take part in mitophagy. PINK1 can also recruit optineurin (OPTN) and nuclear dot protein 52 (NDP52) in a Parkin-independent manner, then activate the autophagy initiation factors unc-51 like kinase 1 (ULK1), double FYVE containing protein 1 (DFCP1) and WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 1 (WIPI1) to start mitophagy. Moreover, overexpression of a synuclein alpha-interacting protein, synphilin-1, stabilises PINK1 on OMM. Instead of Parkin, the PINK1-synphilin-1 complex recruits SIAH-1 to promote mitochondrial protein ubiquitination and subsequent mitophagy.

受体相关蛋白 (γ -aminobutyric acid receptor-associated protein, GABARAP) 结合, 在网织红细胞的成熟过程中介导线粒体的选择性清除过程, 但不涉及细胞核及核糖体等其它细胞器的降解^[35]。相反, NIX 敲除小鼠出现贫血症状, 且其寿命明显缩短^[36]。此外, 研究显示, NIX 可介导干细胞分化过程中的线粒体自噬, 提示 NIX 在其它发育过程中也可发挥重要作用^[37]。NIX 和 BNIP3 还参与了哺乳动物细胞中低氧诱导的线粒体自噬: 低氧可激活低氧诱导因子-1, 诱导 NIX 与 BNIP3 高表达, 进而阻止 Bcl-2 与 Beclin-1 相结合, 游离的 Beclin-1 调节下游 Atg5 蛋白在自噬前体结构中的定位, 从而激活线粒体自噬的发生^[38]。低氧损伤后线粒体被选择性清除的机制目前仍未阐明。

另外, Chen 等^[39] 研究显示, OMM 蛋白 FUNDC1 亦为低氧诱导线粒体自噬的受体蛋白: FUNDC1 可通过其 WXXL 样氨基酸序列与 LC3 相结合, 而低氧刺激可促进其互作, 使受损线粒体被自噬体包裹。Chen 等^[39] 观察到 FUNDC1 介导的线粒体自噬受到 Ser13 和 Tyr18 位点磷酸化状态的严格调控: 在正常状态下, 蛋白激酶 CK2 和 Src 分别诱导 Ser13 和 Tyr18 磷酸化修饰, 使得 FUNDC1 保持高磷酸化水平; 而在低氧应激或者解偶联剂羟基氰 4-(三

氟甲基氧) 苯胺处理后, CK2 和 Src 均被抑制, 同时磷酸甘油酸变位酶 5 (phosphoglycerate mutase 5, PGAM5) 得以激活, 后者介导 FUNDC1 两个位点去磷酸化以诱发线粒体自噬。此外, E3 泛素连接酶膜相关锌指蛋白 5 (membrane-associated RING-CH 5, MARCH5/MITOL) 亦可通过底物泛素化修饰 FUNDC1 进而参与低氧诱导的自噬降解过程^[40]。综上所述, NIX、BNIP3 和 FUNDC1 均能作为受体介导自噬以清除低氧损伤的线粒体, 这对于降低 ROS 水平和维持氧稳态极为重要。在骨肉瘤 U2OS 细胞中, NIX 基因的缺失与癌细胞增殖呈正相关; 在血液恶性肿瘤、肺癌、胃癌、胰腺癌和肝癌中, BNIP3 的表达受到抑制^[41]。另有研究显示, FUNDC1 在肝脏中特异敲除会诱发肝癌^[42]。因此, 作为低氧诱导的线粒体自噬的关键蛋白, 三者均能抑制多类肿瘤的发生、发展, 然而在此过程中 NIX、BNIP3 是否与 FUNDC1 协作还有待进一步研究确认。

3.3 FKBP8介导的线粒体自噬

FKBP8 亦称 FKBP38, 是 FKBP 家族成员之一, 与 FKBP12 高度同源, 定位于线粒体等膜表面^[43]。Bhujabal 等^[43] 观察到 FKBP8 过表达的 HeLa 细胞中呈现线粒体分裂和核周聚集等现象, 且上述变化与现已明确的自噬受体 NIX 和 BNIP3 过表达诱导的

线粒体形态变化相似;此外,FKBP8可通过其LIR氨基酸序列与LC3A相结合以介导线粒体自噬,且该作用不依赖于PINK1/Parkin通路。需要注意的是,当受损线粒体被自噬体包裹时,FKBP8又会从酸化的线粒体转位至内质网以避免其自身被降解,提示FKBP8的转位依赖于其C端弱碱性序列和在自噬期间对凋亡的抑制作用^[44]。目前,关于线粒体自噬降解过程中FKBP8逃逸转位的发生机制尚待研究。另外,FKBP8被视为一种不依赖于雷帕霉素的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)内源性抑制剂^[45]。近期研究显示,FKBP8是内质网信号肽酶(signal peptide peptidase, SPP)的作用底物之一,SPP可通过下调FKBP8表达而激活mTOR信号通路,促进肿瘤的发生和发展^[46]。鉴于mTOR信号通路中包含多个抑癌基因,因此,mTOR内源性抑制剂FKBP8被认为与肿瘤等疾病的发生密切相关^[47]。

3.4 Bcl-2样蛋白13 (Bcl-2-like protein 13, Bcl2L13) 介导的线粒体自噬

OMM蛋白Bcl2L13亦称BCL-Rambo,是Bcl-2家族成员之一,由4个BH结构域(BH1-4)、BHNo区域和跨膜结构域组成,被视为哺乳动物细胞中Atg32的同源蛋白,可在Atg32缺失的酵母细胞中介导非泛素型线粒体自噬^[48]。Murakawa等^[48]在小鼠Bcl2L13蛋白中观察到2个WXXL/I(LIR1/2)基序(分别位于BH和BHNo区域),然而仅位于BHNo区域的基序突变会抑制其自噬介导能力,表明该WXXL/I基序(LIR2, 273-276位点)是LC3互作域;在不依赖于Parkin条件下,小鼠HEK293A细胞内Bcl2L13可通过特有的LIR2基序与LC3互作介导线粒体自噬,且自噬活性受其S272位点磷酸化的调控,但该磷酸化修饰由哪些激酶或磷酸酶介导仍有待研究阐明。Murakawa等^[49]研究显示,小鼠HEK293A细胞内Bcl2L13介导的线粒体自噬与ULK1复合物(ULK1-ATG13-FIP200-ATG101)的募集有关。此外,Bcl2L13在小鼠和人体内存在明显的序列差异(例如小鼠BHNo结构域中存在一处截断),但人HEK293细胞内Bcl2L13基因敲除亦会减弱羰基氰化物氯苯腙(carbonyl cyanide chloro phenyl hydrazine, CCCP)诱导的线粒体自噬^[48],表明人Bcl2L13具有相似的功能。近期Li等^[50]研究显示,人Bcl2L13在介导线粒体自噬过程中具有选择性,其LIR基序可与LC3C/GABARAP/GABARAP-L1相结合以激

活自噬^[50]。另外,Fujiwara等^[51]观察到,在骨髓间质细胞内,Bcl2L13可增强线粒体氧化磷酸化和自噬并抑制细胞凋亡,从而促进脂肪形成。然而,目前仍需更多的离体与在体研究以阐明自噬受体Bcl2L13在调控脂肪细胞分化中的作用。

3.5 NLRX1介导的线粒体自噬

NLRX1亦称NOD5、NOD9、CLR11.3,是核苷酸结合寡聚化结构域样受体[nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor, NLR]家族成员之一,其N端包含一个线粒体定位序列,使其成为NLR家族中唯一分布于线粒体的蛋白^[52]。目前报道NLRX1可能定位于OMM或线粒体基质,尚需进一步研究确认^[52,53]。Zhang等^[54]指出,在不依赖于PINK1/Parkin、NIX、BNIP3和FUNDC1的情况下,单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, LM)感染巨噬细胞后分泌的溶血素可介导NLRX1寡聚化,促使NLRX1的LIR氨基酸序列与LC3相结合,进而诱导线粒体自噬以促进LM存活,表明存在NLRX1依赖性线粒体自噬途径。Li等^[55]观察到,大鼠肠道缺血-再灌注损伤后线粒体自噬被抑制,同时自噬相关蛋白NLRX1、nitrophenylphosphatase domain and non-neuronal SNAP25-like protein homolog 1 (NIPSNAP1)和NIPSNAP2表达明显下调,而FUNDC1 Tyr18磷酸化水平显著上调;通过给予NLRX1过表达处理,可明显抑制FUNDC1磷酸化以上调NIPSNAP1、NIPSNAP2蛋白表达并增强FUNDC1与NIPSNAP1/NIPSNAP2之间的互作,最终诱发线粒体自噬而减轻肠道损伤,为肠道缺血-再灌注损伤相关分子机制的研究提供了线索,说明FUNDC1-NIPSNAP1/NIPSNAP2轴可能是NLRX1介导线粒体自噬的协同因子。但是,迄今尚未明确NLRX1作为线粒体自噬受体究竟如何被激活,需探明是否还有更多的自噬相关蛋白参与其中。

3.6 PHB2介导的线粒体自噬

上述不少研究已证实OMM蛋白在介导线粒体自噬中的作用,然而线粒体内膜(inner mitochondrial membrane, IMM)蛋白在线粒体自噬过程中的调控作用尚未被彻底阐明。最近Wei等^[56]研究观察到,定位于IMM的PHB2亦为应激和胚胎发育过程中介导线粒体自噬的受体蛋白。PHB2与PHB1同属PHB家族成员,前者包含一个线粒体定位所必需的N端跨膜区,还可通过C端环状区与PHB1相结合,

作为复合物参与维持线粒体结构和呼吸链功能^[57]。

Wei 等^[56]利用 CCCP 或线粒体呼吸链抑制剂寡霉素与抗毒素联合处理 HeLa 细胞, 观察到 PHB2 可通过其 LIR 氨基酸序列与 LC3B 互作, 共同调控线粒体选择性自噬过程。鉴于过往研究^[58, 59]在哺乳动物细胞 Parkin 介导的线粒体自噬以及秀丽线虫 (*Caenorhabditis elegans*, *C. elegans*) 父系线粒体清除过程中均观察到 OMM 破裂现象, Wei 等^[56]分析指出, 蛋白酶体依赖性 OMM 破裂可能暴露 IMM 上的受体蛋白以实现与自噬体的潜在互作。换言之, 伴随 Parkin 介导的蛋白酶体依赖性 OMM 降解, IMM 蛋白 PHB2 随即与 LC3B 相结合, 使得 IMM 成为自噬的直接靶点; 最终自噬体通过定位于 OMM 和 IMM 的不同受体蛋白对损伤的线粒体进行双重识别, 或许能够提高特异性清除的效率。近期亦有研究证实, PHB2 的自噬功能可在哺乳动物细胞内参与抗炎^[60]以及防治病毒 (如牛乳头瘤病毒^[61])、细菌 (如绿脓杆菌^[62]) 感染、代谢性疾病 (如胆汁淤积性肝病^[63]) 和癌症 (如非小细胞肺癌^[64]) 等。然而, 目前尚不清楚 IMM 及其自噬受体 PHB2 如何在 Parkin 非依赖性线粒体自噬过程 (如 *C. elegans* 胚胎发育过程中发生的父系线粒体清除) 中暴露而发挥作用。

3.7 CL介导的线粒体自噬

CL 亦称二磷脂酰甘油, 由磷脂酰甘油和胞苷二磷酸-二酰甘油在心磷脂合成酶 (cardiolipin synthase, CLS) 催化下生成^[65]。作为 IMM 的特征性磷脂, CL 参与脂质-蛋白质之间的互作, 是维持线粒体功能 (如嵴形成、膜融合等) 所必需的原料之一^[65, 66]。Chu 等^[67]用 CCCP 或线粒体自噬诱导剂鱼藤酮处理细胞后, 观察到 CL 在 OMM 上高表达, 且可直接与 LC3 互作; 抑制二者之间分子互作、干扰 CLS 或限制 CL 向 OMM 转运, 均会阻断自噬, 表明 CL 是一种线粒体自噬受体。然而, CL 在线粒体膜间转运的机制目前尚未完全阐明。有报道指出, CL 跨膜转运受磷脂促翻转酶-3 (phospholipid scramblase-3, PLS3)^[67] 和核苷二磷酸激酶-D (nucleoside diphosphate kinase D, NDPK-D)^[68] 等密切调控。其中, PLS3 参与维持 CL 在 IMM 与 OMM 之间的平衡分布^[67]。而 NDPK-D 是一种位于膜间隙的六聚体复合物, 负责协助 CL 移位至 OMM; 应用 siRNA 干扰内源性 NDPK-D 表达会抑制 CCCP 诱导的 CL 跨膜转运及随后的自噬降解^[68]。以上研究结果提示, 线粒体损

伤或膜去极化均会引起 CL 从 IMM 向 OMM 转位, 此为 CL 介导线粒体自噬的起始信号^[67, 68]。

目前, 在心血管疾病^[69]和肿瘤^[70]等模型中 CL 含量及组成均出现大幅度变化的现象, 其中受影响较大的是在高代谢活性组织 (如心肌与骨骼肌等) 中最丰富的 CL-四亚油酰基心磷脂 (tetralinoleoyl CL, TLCL)。另有研究显示, LC3 可与成熟的 TLCL 特异性互作, 后者依赖于 CL 重塑相关酶 TAZ (Tafazzin) 从未成熟单体心磷脂中提取; TAZ 缺乏会阻止 CL 重塑及其介导的线粒体自噬, 导致线粒体功能紊乱 (呼吸功能和 ROS 生成下调), 这可能是诱发心肌病变和 Barth 综合征等的重要原因^[67, 71]。此外, Shimasaki 等^[72]在慢性粒细胞白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 离体模型中观察到, CL 可通过与 p210 BCR-ABL 蛋白 (一种引起 CML 的常见变体) 的 PH 结构域互作, 引起后者从胞质转位至线粒体, 最终抑制 CCCP 诱导的线粒体自噬并加重线粒体损伤; 他们推测, p210 BCR-ABL 可能是通过其 PH 结构域与 LC3 竞争性地结合 CL, 以抑制线粒体自噬, 从而发挥促进肿瘤增殖作用。然而, 目前仍不清楚 CL 重塑的分子机制与生理意义及其介导的线粒体自噬在 CML 等肿瘤发生和发展过程中如何变化, 以及是否存在其它的线粒体自噬受体。综上所述, 我们将线粒体自噬相关受体蛋白的调控机制归纳于图 2。

4 小结与展望

自噬蛋白是介导线粒体自噬的关键调节器, 直接影响细胞的生理功能, 尤其在应激状态下与神经退行性疾病、肿瘤等发病机制及病理生理变化密切相关。酵母和哺乳动物细胞中的线粒体自噬主要有 Atg32、PINK1 介导的泛素化降解途径以及 NIX、BNIP3、FUNDC1、FKBP8、Bcl2L13、NLRX1、PHB2 与 CL 等不同蛋白介导的受体识别通路。在介导线粒体自噬和参与 MQC 过程中, 上述受体蛋白之间可能存在的互作或竞争性表达机制均有着深入研究的价值。目前, 有如下关键问题尚待阐明: (1) 在生理条件下, 不同哺乳动物细胞类型的线粒体自噬诱导及其进程的分子机制, 包括 PINK1-Parkin 和其它平行信号途径存在怎样的相关性; (2) 线粒体自噬可在不同的生理和病理条件下发生, 但是否每种条件下都由不同的作用机制调控; (3) 在线粒体自噬起始过程中, 有 3 个主要的分子事件发生:

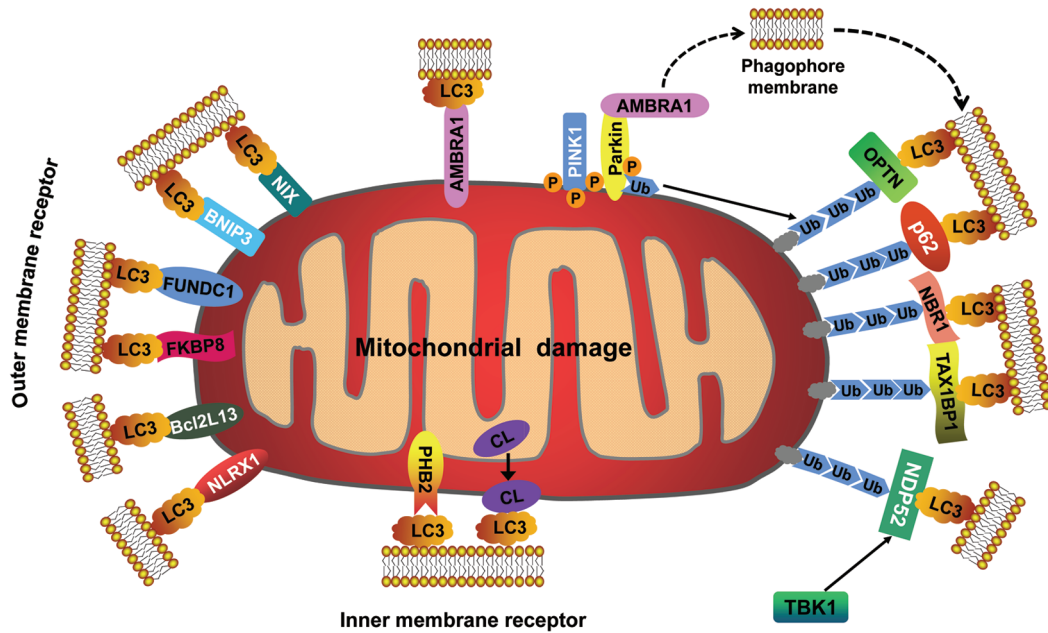


图 2. 线粒体自噬相关受体蛋白的调控机制

Fig. 2. Regulatory mechanism of mitophagy-related receptor proteins. Mitochondrial membrane associated proteins such as PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1), NIX/BNIP3L (BCL2/adenovirus E1B protein-interacting protein 3-like), BNIP3, FUN14 domain containing 1 (FUNDC1), FKBP8/FKBP38, Bcl-2-like protein 13 (Bcl2L13), nucleotide binding domain and leucine-rich-repeat-containing proteins X1 (NLRX1), prohibitin 2 (PHB2) and lipids, such as cardiolipin (CL), are the key mitophagic receptors in mammalian cells, which can selectively recognize damaged mitochondria and recruit them into phagosome membranes by binding to microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3). Interaction of LC3 with ubiquitin (Ub)-ligated autophagy adaptors such as p62/sequestosome-1, optineurin (OPTN), nuclear dot protein 52 (NDP52), neighbour of BRCA1 gene 1 (NBR1) and TAX1-binding protein 1 (TAX1BP1) can also induce mitophagy. The TANK-binding kinase 1 (TBK1) mediates phosphorylation of OPTN, NDP52 and p62 adaptors, thus increasing their binding affinity for poly-Ub. Autophagy/beclin 1 regulator 1 (AMBRA1) is involved in both pathways.

线粒体网络发生分裂、线粒体启动“eat-me”信号、自噬泡向线粒体募集并将其吞噬，上述事件是否按一定顺序出现亦或同时发生；(4) 线粒体自噬如何与其它MQC机制(生物发生、融合与分裂等)相结合。厘清上述问题，将为线粒体自噬信号分子作为疾病诊疗潜在靶点提供理论与实验基础。

参考文献

- van der Rijt S, Molenaars M, McIntyre RL, Janssens GE, Houtkooper RH. Integrating the hallmarks of aging throughout the tree of life: a focus on mitochondrial dysfunction. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 594416.
- Ichimiya T, Yamakawa T, Hirano T, Yokoyama Y, Hayashi Y, Hirayama D, Wagatsuma K, Itoi T, Nakase H. Autophagy and autophagy-related diseases: a review. *Int J Mol Sci* 2020; 21(23): 8974.
- Wang ZS (王志舒), Tan XR, Liu HH. Research advances in the regulation mechanism of mitophagy. *Biotechnol Bull (生物技术通报)* 2015; 31(6): 42-47 (in Chinese).
- Hu L (胡磊), Dai HM. Advances in the study of mitophagy. *Chin J Cell Biol (中国细胞生物学学报)* 2018; 40(4): 138-145 (in Chinese).
- Chen LB (陈林波), Ma KL, Chen Q, Zhu YS. Molecular mechanisms of mitophagy. *Sci Sin Vitae (中国科学: 生命科学)* 2019; 49(9): 1045-1053 (in Chinese).
- Green DR, Van Houten B. SnapShot: Mitochondrial quality control. *Cell* 2011; 147(4): 950, 950.e1.
- Deter RL, De Duve C. Influence of glucagon, an inducer of cellular autophagy, on some physical properties of rat liver lysosomes. *J Cell Biol* 1967; 33(2): 437-449.
- Lemasters JJ. Selective mitochondrial autophagy, or mitophagy, as a targeted defense against oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. *Rejuvenation Res* 2005; 8(1): 3-5.
- Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A, Kroemer G. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(9): 741-752.
- Kerr JS, Adriaanse BA, Greig NH, Mattson MP, Cader MZ,

- Bohr VA, Fang EF. Mitophagy and Alzheimer's disease: cellular and molecular mechanisms. *Trends Neurosci* 2017; 40(3): 151–166.
- 11 Clark EH, Vázquez de la Torre A, Hoshikawa T, Briston T. Targeting mitophagy in Parkinson's disease. *J Biol Chem* 2020; 23: 100209.
- 12 Shires SE, Gustafsson ÅB. Mitophagy and heart failure. *J Mol Med (Berl)* 2015; 93(3): 253–262.
- 13 Furukawa K, Innokentev A, Kanki T. Regulatory mechanisms of mitochondrial autophagy: lessons from yeast. *Front Plant Sci* 2019; 10: 1479.
- 14 Kanki T, Wang K, Cao Y, Baba M, Klionsky DJ. Atg32 is a mitochondrial protein that confers selectivity during mitophagy. *Dev Cell* 2009; 17(1): 98–109.
- 15 Kissová I, Deffieu M, Manon S, Camougrand N. Uth1p is involved in the autophagic degradation of mitochondria. *J Biol Chem* 2004; 279(37): 39068–39074.
- 16 Tal R, Winter G, Ecker N, Klionsky DJ, Abeliovich H. Aup1p, a yeast mitochondrial protein phosphatase homolog, is required for efficient stationary phase mitophagy and cell survival. *J Biol Chem* 2007; 282(8): 5617–5624.
- 17 Matsuda N, Sato S, Shiba K, Okatsu K, Saisho K, Gautier CA, Sou YS, Saiki S, Kawajiri S, Sato F, Kimura M, Komatsu M, Hattori N, Tanaka K. PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *J Cell Biol* 2010; 189(2): 211–221.
- 18 Koyano F, Okatsu K, Kosako H, Tamura Y, Go E, Kimura M, Kimura Y, Tsuchiya H, Yoshihara H, Hirokawa T, Endo T, Fon EA, Trempe JF, Saeki Y, Tanaka K, Matsuda N. Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin. *Nature* 2014; 510(7503): 162–166.
- 19 Geisler S, Holmström KM, Skujat D, Fiesel FC, Rothfuss OC, Kahle PJ, Springer W. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat Cell Biol* 2010; 12(2): 119–131.
- 20 Gegg ME, Cooper JM, Chau KY, Rojo M, Schapira AH, Taanman JW. Mitofusin 1 and mitofusin 2 are ubiquitinated in a PINK1/parkin-dependent manner upon induction of mitophagy. *Hum Mol Genet* 2010; 19(24): 4861–4870.
- 21 Vaillant-Beuchot L, Mary A, Pardossi-Piquard R, Bourgeois A, Lauritzen I, Eysert F, Kinoshita PF, Cazareth J, Badot C, Fragaki K, Bussiere R, Martin C, Mary R, Bauer C, Pagnotta S, Paquis-Flucklinger V, Buée-Scherrer V, Buée L, Lacas-Gervais S, Checler F, Chami M. Accumulation of amyloid precursor protein C-terminal fragments triggers mitochondrial structure, function, and mitophagy defects in Alzheimer's disease models and human brains. *Acta Neuropathol* 2021; 141(1): 39–65.
- 22 Song M, Mihara K, Chen Y, Scorrano L, Dorn GW 2nd. Mitochondrial fission and fusion factors reciprocally orchestrate mitophagic culling in mouse hearts and cultured fibroblasts. *Cell Metab* 2015; 21(2): 273–286.
- 23 Shang H, Xia Z, Bai S, Zhang HE, Gu B, Wang R. Downhill running acutely elicits mitophagy in rat soleus muscle. *Med Sci Sports Exerc* 2019; 51(7): 1396–1403.
- 24 Puissant A, Fenouille N, Auberger P. When autophagy meets cancer through p62/SQSTM1. *Am J Cancer Res* 2012; 2(4): 397–413.
- 25 Lazarou M, Sliter DA, Kane LA, Sarraf SA, Wang C, Burman JL, Sideris DP, Fogel AI, Youle RJ. The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. *Nature* 2015; 524(7565): 309–314.
- 26 Strappazzon F, Nazio F, Corrado M, Cianfanelli V, Romagnoli A, Fimia GM, Campello S, Nardacci R, Piacentini M, Campanella M, Cecconi F. AMBRA1 is able to induce mitophagy via LC3 binding, regardless of PARKIN and p62/SQSTM1. *Cell Death Differ* 2015; 22(3): 419–432.
- 27 Strappazzon F, Cecconi F. AMBRA1-induced mitophagy: a new mechanism to cope with cancer? *Mol Cell Oncol* 2015; 2(2): e975647.
- 28 D'Acunzo P, Strappazzon F, Caruana I, Meneghetti G, Di Rita A, Simula L, Weber G, Del Bufalo F, Dalla Valle L, Campello S, Locatelli F, Cecconi F. Reversible induction of mitophagy by an optogenetic bimodular system. *Nat Commun* 2019; 10(1): 1533.
- 29 McLelland GL, Soubannier V, Chen CX, McBride HM, Fon EA. Parkin and PINK1 function in a vesicular trafficking pathway regulating mitochondrial quality control. *EMBO J* 2014; 33(4): 282–295.
- 30 Du F, Yu Q, Yan S, Hu G, Lue LF, Walker DG, Wu L, Yan SF, Tieu K, Yan SS. PINK1 signalling rescues amyloid pathology and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Brain* 2017; 140(12): 3233–3251.
- 31 Martín-Maestro P, Gargini R, Perry G, Avila J, García-Escudero V. PARK2 enhancement is able to compensate mitophagy alterations found in sporadic Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 2016; 25(4): 792–806.
- 32 Villa E, Proics E, Rubio-Patiño C, Obba S, Zunino B, Bossowski JP, Rozier RM, Chiche J, Mondragón L, Riley JS, Marchetti S, Verhoeven E, Tait SWG, Ricci JE. Parkin-independent mitophagy controls chemotherapeutic response in cancer cells. *Cell Rep* 2017; 20(12): 2846–2859.
- 33 Harper JW, Ordureau A, Heo JM. Building and decoding ubiquitin chains for mitophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018; 19(2): 93–108.
- 34 Szargel R, Shani V, Abd Elghani F, Mekies LN, Liani E, Rott R, Engelender S. The PINK1, synphilin-1 and SIAH-1

- complex constitutes a novel mitophagy pathway. *Hum Mol Genet* 2016; 25(16): 3476–3490.
- 35 Schweers RL, Zhang J, Randall MS, Loyd MR, Li W, Dorsey FC, Kundu M, Opferman JT, Cleveland JL, Miller JL, Ney PA. NIX is required for programmed mitochondrial clearance during reticulocyte maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(49): 19500–19505.
- 36 Sandoval H, Thiagarajan P, Dasgupta SK, Schumacher A, Prchal JT, Chen M, Wang J. Essential role for Nix in autophagic maturation of erythroid cells. *Nature* 2008; 454(7201): 232–235.
- 37 Xiang G, Yang L, Long Q, Chen K, Tang H, Wu Y, Liu Z, Zhou Y, Qi J, Zheng L, Liu W, Ying Z, Fan W, Shi H, Li H, Lin X, Gao M, Liu J, Bao F, Li L, Duan L, Li M, Liu X. BNIP3L-dependent mitophagy accounts for mitochondrial clearance during 3 factors-induced somatic cell reprogramming. *Autophagy* 2017; 13(9): 1543–1555.
- 38 Novak I, Dikic I. Autophagy receptors in developmental clearance of mitochondria. *Autophagy* 2011; 7(3): 301–303.
- 39 Chen G, Han Z, Feng D, Chen Y, Chen L, Wu H, Huang L, Zhou C, Cai X, Fu C, Duan L, Wang X, Liu L, Liu X, Shen Y, Zhu Y, Chen Q. A regulatory signaling loop comprising the PGAM5 phosphatase and CK2 controls receptor-mediated mitophagy. *Mol Cell* 2014; 54(3): 362–377.
- 40 Chen Z, Liu L, Cheng Q, Li Y, Wu H, Zhang W, Wang Y, Sehgal SA, Siraj S, Wang X, Wang J, Zhu Y, Chen Q. Mitochondrial E3 ligase MARCH5 regulates FUNDC1 to fine-tune hypoxic mitophagy. *EMBO Rep* 2017; 18(3): 495–509.
- 41 Chourasia AH, Boland ML, Macleod KF. Mitophagy and cancer. *Cancer Metab* 2015; 3: 4.
- 42 Li W, Li Y, Siraj S, Jin H, Fan Y, Yang X, Huang X, Wang X, Wang J, Liu L, Du L, Chen Q. FUN14 domain-containing 1-mediated mitophagy suppresses hepatocarcinogenesis by inhibition of inflammasome activation in mice. *Hepatology* 2019; 69(2): 604–621.
- 43 Bhujabal Z, Birgisdottir ÁB, Sjøttem E, Brenne HB, Øvervatn A, Habisov S, Kirkin V, Lamark T, Johansen T. FKBP8 recruits LC3A to mediate Parkin-independent mitophagy. *EMBO Rep* 2017; 18(6): 947–961.
- 44 Saita S, Shirane M, Nakayama KI. Selective escape of proteins from the mitochondria during mitophagy. *Nat Commun* 2013; 4: 1410.
- 45 Fu YT, Zheng X, He Q, Jia XY, Guo ZX, Yao RY, Wang YF, Wang ZG. Silencing FKBP38 gene by siRNA induces activation of mTOR signaling in goat fetal fibroblasts. *Genet Mol Res* 2015; 14(3): 9675–9682.
- 46 Hsu FF, Chou YT, Chiang MT, Li FA, Yeh CT, Lee WH, Chau LY. Signal peptide peptidase promotes tumor progression via facilitating FKBP8 degradation. *Oncogene* 2019; 38(10): 1688–1701.
- 47 Romano S, Di Pace A, Sorrentino A, Bisogni R, Sivero L, Romano MF. FK506 binding proteins as targets in anticancer therapy. *Anticancer Agents Med Chem* 2010; 10(9): 651–656.
- 48 Murakawa T, Yamaguchi O, Hashimoto A, Hikoso S, Takeda T, Oka T, Yasui H, Ueda H, Akazawa Y, Nakayama H, Taneike M, Misaka T, Omiya S, Shah AM, Yamamoto A, Nishida K, Ohsumi Y, Okamoto K, Sakata Y, Otsu K. Bcl-2-like protein 13 is a mammalian Atg32 homologue that mediates mitophagy and mitochondrial fragmentation. *Nat Commun* 2015; 6: 7527.
- 49 Murakawa T, Okamoto K, Omiya S, Taneike M, Yamaguchi O, Otsu K. A mammalian mitophagy receptor, Bcl2-L-13, recruits the ULK1 complex to induce mitophagy. *Cell Rep* 2019; 26(2): 338–345.e6.
- 50 Li M, Jia J, Zhang X, Dai H. Selective binding of mitophagy receptor protein Bcl-rambo to LC3/GABARAP family proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2020; 530(1): 292–300.
- 51 Fujiwara M, Tian L, Le PT, DeMambro VE, Becker KA, Rosen CJ, Guntur AR. The mitophagy receptor Bcl-2-like protein 13 stimulates adipogenesis by regulating mitochondrial oxidative phosphorylation and apoptosis in mice. *J Biol Chem* 2019; 294(34): 12683–12694.
- 52 Arnoult D, Soares F, Tattoli I, Castanier C, Philpott DJ, Girardin SE. An N-terminal addressing sequence targets NLRX1 to the mitochondrial matrix. *J Cell Sci* 2009; 122(17): 3161–3168.
- 53 Moore CB, Bergstralh DT, Duncan JA, Lei Y, Morrison TE, Zimmermann AG, Accavitti-Loper MA, Madden VJ, Sun L, Ye Z, Lich JD, Heise MT, Chen Z, Ting JP. NLRX1 is a regulator of mitochondrial antiviral immunity. *Nature* 2008; 451(7178): 573–577.
- 54 Zhang Y, Yao Y, Qiu X, Wang G, Hu Z, Chen S, Wu Z, Yuan N, Gao H, Wang J, Song H, Girardin SE, Qian Y. Listeria hijacks host mitophagy through a novel mitophagy receptor to evade killing. *Nat Immunol* 2019; 20(4): 433–446.
- 55 Li S, Zhou Y, Gu X, Zhang X, Jia Z. NLRX1/FUNDC1/NIPSNAP1–2 axis regulates mitophagy and alleviates intestinal ischaemia/reperfusion injury. *Cell Prolif* 2021; 54(3): e12986.
- 56 Wei Y, Chiang WC, Sumpter R Jr, Mishra P, Levine B. Prohibitin 2 is an inner mitochondrial membrane mitophagy receptor. *Cell* 2017; 168(1–2): 224–238.e10.
- 57 Osman C, Merkwirth C, Langer T. Prohibitins and the functional compartmentalization of mitochondrial membranes. *J Cell Sci* 2009; 122(Pt 21): 3823–3830.
- 58 Yoshii SR, Kishi C, Ishihara N, Mizushima N. Parkin mediates

- proteasome-dependent protein degradation and rupture of the outer mitochondrial membrane. *J Biol Chem* 2011; 286: 19630–19640.
- 59 Wang Y, Zhang Y, Chen L, Liang Q, Yin XM, Miao L, Kang BH, Xue D. Kinetics and specificity of paternal mitochondrial elimination in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun* 2016; 7: 12569.
- 60 Xu Y, Wang J, Xu W, Ding F, Ding W. Prohibitin 2-mediated mitophagy attenuates renal tubular epithelial cells injury by regulating mitochondrial dysfunction and NLRP3 inflammasome activation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2019; 316(2): F396–F407.
- 61 De Falco F, Gentile I, Cerino P, Cutarelli A, Catoi C, Roperto S. Prohibitin 2 is involved in Parkin-mediated mitophagy in urothelial cells of cattle infected with bovine papillomavirus. *Pathogens* 2020; 9(8): 621.
- 62 Huang T, Pu Q, Zhou C, Lin P, Gao P, Zhang X, Chu Y, Yue B, Wu M. MicroRNA-302/367 cluster impacts host antimicrobial defense via regulation of mitophagic response against *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Front Immunol* 2020; 11: 569173.
- 63 Xiao Y, Zhou Y, Lu Y, Zhou K, Cai W. PHB2 interacts with LC3 and SQSTM1 is required for bile acids-induced mitophagy in cholestatic liver. *Cell Death Dis* 2018; 9(2): 160.
- 64 Zhang H, Yin C, Liu X, Bai X, Wang L, Xu H, Ju J, Zhang L. Prohibitin 2/PHB2 in Parkin-mediated mitophagy: a potential therapeutic target for non-small cell lung carcinoma. *Med Sci Monit* 2020; 26: e923227.
- 65 Schlattner U, Tokarska-Schlattner M, Rousseau D, Boissan M, Mannella C, Epand R, Lacombe ML. Mitochondrial cardiolipin/phospholipid trafficking: the role of membrane contact site complexes and lipid transfer proteins. *Chem Phys Lipid* 2014; 179: 32–41.
- 66 Khalifat N, Fournier JB, Angelova MI, Puff N. Lipid packing variations induced by pH in cardiolipin-containing bilayers: the driving force for the cristae-like shape instability. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1808(11): 2724–2733.
- 67 Chu CT, Ji J, Dagda RK, Jiang JF, Tyurina YY, Kapralov AA, Tyurin VA, Yanamala N, Shrivastava IH, Mohammadyani D, Wang KZQ, Zhu J, Klein-Seetharaman J, Balasubramanian K, Amoscato AA, Borisenko G, Huang Z, Gusdon AM, Cheikhi A, Steer EK, Wang R, Baty C, Watkins S, Bahar I, Bayir H, Kagan VE. Cardiolipin externalization to the outer mitochondrial membrane acts as an elimination signal for mitophagy in neuronal cells. *Nat Cell Biol* 2013; 15(10): 1197–1205.
- 68 Kagan VE, Jiang J, Huang Z, Tyurina YY, Desbourdes C, Cottet-Rousselle C, Dar HH, Verma M, Tyurin VA, Kapralov AA, Cheikhi A, Mao G, Stolz D, St Croix CM, Watkins S, Shen Z, Li Y, Greenberg ML, Tokarska-Schlattner M, Boissan M, Lacombe ML, Epand RM, Chu CT, Mallampalli RK, Bayir H, Schlattner U. NDPK-D (NM23-H4)-mediated externalization of cardiolipin enables elimination of depolarized mitochondria by mitophagy. *Cell Death Differ* 2016; 23(7): 1140–1151.
- 69 Shen Z, Ye C, McCain K, Greenberg ML. The role of cardiolipin in cardiovascular health. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 891707.
- 70 Peyta L, Jarnouen K, Pinault M, Coulouarn C, Guimaraes C, Goupille C, de Barros JP, Chevalier S, Dumas JF, Maillot F, Hatch GM, Loyer P, Servais S. Regulation of hepatic cardiolipin metabolism by TNF α : implication in cancer cachexia. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1851(11): 1490–1500.
- 71 Hsu P, Liu X, Zhang J, Wang HG, Ye JM, Shi Y. Cardiolipin remodeling by TAZ/tafazzin is selectively required for the initiation of mitophagy. *Autophagy* 2015; 11(4): 643–652.
- 72 Shimasaki K, Watanabe-Takahashi M, Umeda M, Funamoto S, Saito Y, Noguchi N, Kumagai K, Hanada K, Tsukahara F, Maru Y, Shibata N, Naito M, Nishikawa K. Pleckstrin homology domain of p210 BCR-ABL interacts with cardiolipin to regulate its mitochondrial translocation and subsequent mitophagy. *Genes Cells* 2018; 23(1): 22–34.