

DOI: 10.13376/j.cbls/2023086

文章编号: 1004-0374(2023)06-0759-10

## 电子传递链功能缺陷相关线粒体疾病的治疗进展

鲁何东<sup>1</sup>, 刘鑫雨<sup>2</sup>, 李可<sup>3</sup>, 钟一宁<sup>3</sup>, 王文敬<sup>3</sup>, 张瑜<sup>2</sup>,  
邓安琪<sup>2</sup>, 张敏<sup>2</sup>, 邹佳佳<sup>4</sup>, 韩智慧<sup>4</sup>, 邹薇薇<sup>1\*</sup>

(1 安徽医科大学第一附属医院妇产科生殖医学中心, 国家卫生健康委配子及生殖道异常研究重点实验室, 出生人口健康教育部重点实验室, 生殖健康与遗传安徽省重点实验室, 安徽省生命资源保存与人工器官工程技术研究中心, 合肥 230032; 2 安徽医科大学第二临床医学院, 合肥 230032; 3 安徽医科大学第一临床医学院, 合肥 230032; 4 安徽医科大学公共卫生学院, 合肥 230032)

**摘要:** 线粒体疾病 (mitochondrial diseases, MDs) 与电子传递链功能缺陷密切相关。电子传递链上的五种复合物共同维持电子传递链的正常功能, 从而确保 ATP 的产生。电子传递链上任何一种复合物的功能缺陷都会损伤线粒体功能, 导致线粒体疾病的发生。因此, 针对不同的复合物功能缺陷, 可以采取相应的治疗措施来挽救其功能, 达到缓解或治愈线粒体疾病的目的。本文以电子传递链上五种复合物为研究对象, 阐述不同复合物功能缺陷导致的线粒体疾病以及相应的治疗措施。

**关键词:** 电子传递链; 线粒体疾病; 复合物 I; 复合物 II; 复合物 III; 复合物 IV; 复合物 V

中图分类号: Q25 文献标志码: A

## Advances in the treatment of mitochondrial diseases associated with functional defects in electron transport chain

LU He-Dong<sup>1</sup>, LIU Xin-Yu<sup>2</sup>, LI Ke<sup>3</sup>, ZHONG Yi-Ning<sup>3</sup>, WANG Wen-Jing<sup>3</sup>, ZHANG Yu<sup>2</sup>,  
DENG An-Qi<sup>2</sup>, ZHANG Min<sup>2</sup>, ZOU Jia-Jia<sup>4</sup>, HAN Zhi-Hui<sup>4</sup>, ZOU Wei-Wei<sup>1\*</sup>

(1 Reproductive Medicine Center, Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, NHC Key Laboratory of Study on Abnormal Gametes and Reproductive Tract, Key Laboratory of Population Health Across Life Cycle, Anhui Province Key Laboratory of Reproductive Health and Genetics, Biopreservation and Artificial Organs, Anhui Provincial Engineering Research Center, Hefei 230032, China; 2 The Second Clinical Medical College of Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 3 The First Clinical Medical College of Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 4 School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

**Abstract:** Mitochondrial diseases (MDs) are thought to be closely related to the dysfunction of the electron transport chain (ETC). The five complexes in the ETC work cooperatively to maintain the normal function of the ETC and thus ensure the production of ATP. Defects in the function of any one of these complexes can impair mitochondrial function and lead to the occurrence of mitochondrial diseases. Therefore, for functional defects of different complexes, corresponding therapeutic measures can be taken to rescue its function and achieve the alleviation or cure of mitochondrial diseases. In this review, we focus on five complexes in the ETC to illustrate the

收稿日期: 2022-12-30; 修回日期: 2023-02-18

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFC2700901); 国家自然科学基金项目(82001635, 81971455, U20A20350); 安徽省留学人员创新项目择优资助计划项目(2022LCX015); 高校优秀青年人才支持计划重点项目(gxyqZD2022027); 安徽省临床医学研究转化专项(202204295107020012)

\*通信作者: E-mail: zouweiwei@ahmu.edu.cn

mitochondrial diseases caused by functional defects of different complexes and the corresponding therapeutic measures.

**Key words:** electron transport chain; mitochondrial diseases; complex I; complex II; complex III; complex IV; complex V

线粒体疾病 (mitochondrial diseases, MDs) 是一组遗传性氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation, OXPHOS) 功能缺陷导致腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP) 合成障碍, 造成能量来源不足的代谢性疾病<sup>[1-2]</sup>。其临床表现异质性较大, 既可以单系统发病也可多系统受累。其中, 能量需求较高的器官易被累及, 如骨骼肌系统、神经系统、心血管系统等<sup>[3-4]</sup>。MDs 的临床表现与其发病机制密切相关, 不同病因导致的电子传递链 (electron transport chain, ETC) 功能缺陷, 其 ATP 合成能力也会受到不同程度的影响, 而且由于不同组织器官引起临床表型的阈值效应不同, 因此所呈现的临床症状也不同。

ETC 由核 DNA (nuclear DNA, nDNA) 和线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 分别编码的蛋白质亚单位组装形成, 并需要各种不同的组装辅因子<sup>[5-6]</sup>。ETC 上的 5 种膜蛋白复合物 (复合物 I/ NADH 泛醌还原酶、复合物 II/ 琥珀酸-泛醌还原酶、复合物 III/ 泛醌-细胞色素 c 还原酶、复合物 IV/ 细胞色素 c 氧化酶、复合物 V/F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP 合酶), 与两种可移动的电子载体 (嵌入膜的疏水性泛醌和可溶性细胞色素 c) 共同组成了电子传递链<sup>[7]</sup>。电子传递链功能缺陷是 MDs 的最主要病因, 近年来靶向电子传递链的 MDs 治疗方法和药物取得了显著的进展。本文总结了近年来靶向电子传递链上不同的膜蛋白复合物的特异性治疗方法, 进一步深化对线粒体疾病治疗方法的认识。

## 1 线粒体疾病的概述

MDs 是由 mtDNA 或 (和) 核 nDNA 突变引起线粒体电子传递链缺陷, 造成 ATP 合成障碍、能量来源不足的一组异质性遗传代谢疾病<sup>[8]</sup>。线粒体作为为机体提供能量的细胞器, 其功能缺陷会影响许多组织, 而且发病方式多样, 同一种突变可以造成不同的表型, 不同的突变也可以导致同一表型, 某种特定的表型往往是由几种突变共同导致<sup>[9]</sup>。感觉上皮以及大脑、眼外肌、心脏、骨骼肌等组织器官往往因为能量需求高而受累程度更为严重<sup>[10]</sup>。常见的 MDs 有 Leber 遗传性视神经病变 (Leber hereditary optic neuropathy, LHON)、慢性进行性眼外肌瘫痪

(chronic progressive external ophthalmoplegia, CPEO)、科恩斯-赛尔综合征 (Kearns-Sayre syndrome, KSS)、线粒体肌病脑病伴乳酸中毒及中风样发作 (MELAS 综合征) 等<sup>[11-13]</sup>。单个器官受累的病例相对较少, 例如 LHON 中孤立的眼睛受累。大多数患者表现为多系统受累。其中, 儿童线粒体疾病通常临床表现很严重, 常见的、非特异性的临床特征包括低张力、全身无力、发育失败、自主神经障碍、疲劳、运动不耐受、呕吐、癫痫和脑病<sup>[14]</sup>。与儿童发病的线粒体疾病类似, 成人发病的线粒体疾病也以多种方式呈现和进展, 如与 KSS 相关的色素性视网膜炎、眼肌麻痹和心脏传导缺陷, 与 MELAS 综合征相关的线粒体肌病、脑病、乳酸酸中毒和中风样发作等<sup>[15-16]</sup>。

由于 MDs 缺乏临床特征和基因型之间的相关性, 而且存在临床受累组织的差异性和突变方式的多样性, 所以建立遗传学诊断是一个极其困难的过程<sup>[17-18]</sup>。但一些新的科学技术的应用, 如活细胞纳米镜技术可观察活细胞的线粒体形态、线粒体自噬和线粒体动力学, 这可能对于线粒体疾病的发病机制理解以及治疗具有重要价值<sup>[19]</sup>。目前 MDs 的治疗方法主要以恢复受损的电子传递链功能为主, 包括修复呼吸链缺陷、线粒体代谢的药理学刺激、补充缺乏因子和对症治疗, 同时新兴的线粒体置换技术 (mitochondrial replacement technology, MRT) 为该疾病的预防和治疗带来了巨大的希望。尽管如此, 目前 MDs 仍旧无法治愈<sup>[20]</sup>。

## 2 电子传递链的概述

### 2.1 电子传递链的组成

线粒体是真核细胞进行有氧呼吸、合成 ATP 的主要部位。糖、脂肪、蛋白质等营养物质在代谢过程中产生还原型 NADH, 会进一步通过电子传递链被彻底氧化产生水和 ATP<sup>[21]</sup> (图 1)。其中复合物 I 是一种“L”型酶, 包含伸入线粒体基质的亲水臂和突出嵌于内膜的疏水臂。亲水臂含有可结合 NADH 的黄素单核苷酸 (FMN) 和 Fe-S 辅基, 两臂交界点可以结合辅酶 Q。复合物 I 接受来自 NADH 的电子并传递给辅酶 Q<sup>[22]</sup>。复合物 II 由四个亚单位蛋白质 (SDHA、SDHB、SDHC、SDHD) 和黄素腺

嘌呤二核苷酸 (FAD) 辅基组成。其中, SDHC 和 SDHD 为琥珀酸脱氢酶的线粒体内膜锚定亚单位, SDHA 为黄素蛋白, SDHB 为铁硫蛋白, SDHA 和 SDHB 含有琥珀酸结合位点。复合物 II 催化琥珀酸脱氢, 使还原型黄素二核苷酸 (FADH<sub>2</sub>) 成为 FAD, 将电子从琥珀酸经 FADH<sub>2</sub> 和 Fe-S 传递给辅酶 Q<sup>[23]</sup>。复合物 III 是二聚体结构, 其功能区主要包括细胞色素 b、细胞色素 c<sub>1</sub> 和铁硫蛋白, 通过“Q 循环”实现电子从 QH<sub>2</sub> 到细胞色素 c (Cyt c) 的传递<sup>[24]</sup>。复合物 IV (COX) 是一种铜-血红素异多聚体复合物, 由 mtDNA 编码的 3 个催化核心亚单位 (COX<sub>1</sub>、COX<sub>2</sub>、COX<sub>3</sub>) 和 nDNA 编码的 11 个亚单位组成<sup>[25]</sup>。COX<sub>1</sub> 和 COX<sub>2</sub> 包含该酶的氧化还原金属活性中心, COX<sub>2</sub> 结合可溶性 Cyt c<sup>[26]</sup>。复合物 V 即 ATP 合酶, 虽然不参与电子的传递但在电子传递链发挥功能中起着重要作用。它主要由亚单位  $\alpha_3$ 、 $\beta_3$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$  组成的亲水结构域 F<sub>1</sub> 和由疏水的 a、b<sub>2</sub>、c<sub>9-12</sub> 亚基组成的结构域 F<sub>0</sub> 组成<sup>[27]</sup>。

## 2.2 电子传递链的作用

上述前四种复合物与泛醌、Cyt c 共同组成两条电子传递链。复合物 I 将来自 NADH 的电子传递给辅酶 Q, 复合物 II 将来自琥珀酸的电子传递给辅酶 Q, 复合物 III 将辅酶 Q 携带的电子传递给 Cyt c, Cyt c 传递来自复合物 III 的电子至复合物 IV, 在复合物 IV 上 O<sub>2</sub> 获得电子并被还原成水<sup>[28]</sup>。另外, 复合物 I、III 和 IV 具有质子泵功能<sup>[29]</sup>。当电子从复合物 I 传递到辅酶 Q 时可使四个质子穿过内膜进入膜间隙。QH<sub>2</sub> 被复合物 III 氧化会使电子转移到 Cyt c, 每一个电子转移到 Cyt c 时有两个质子被泵入膜间隙侧, 所以每对电子通过循环时有四个质子被泵

入膜间隙侧。Cyt c 将电子传递给复合物 IV, 复合物 IV 在电子传递过程中理论上可使四个质子泵入膜间隙侧, 但 1/2 分子的氧气被还原为 1 分子水的过程会消耗两个质子, 所以最终导致向膜间隙侧泵入两个质子。由此产生的质子电化学梯度驱动质子从膜间隙侧顺浓度梯度方向回流至基质, 释放出储存的势能被复合物 V 利用, 用于 ATP 的合成<sup>[30-31]</sup>。

## 2.3 电子传递链超级复合体和活性氧

ETC 成分中单个复合物之间的结合形成呼吸链超级复合体, 如复合物 I 和复合物 III 组装、复合物 III 和复合物 IV 组装分别形成的二聚体, 以及复合物 I、III 和 IV 组装形成的、称为“呼吸体”的超级复合体<sup>[32-33]</sup>。呼吸体不仅有利于提高有氧呼吸中能量转换的效率, 还有利于稳定单个复合体的结构<sup>[34]</sup>。电子传递链在传递电子过程中漏出的一部分电子若直接被传递给氧会导致活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生, ROS 可引起细胞氧化损伤。而呼吸链超复合体被认为可以防止过量的 ROS 产生<sup>[35]</sup>。

## 3 电子传递链缺陷相关线粒体疾病的概述

线粒体遗传缺陷会导致复合物 I、II、III、IV 或 V 缺陷, 从而导致线粒体能量代谢障碍, 常损伤中枢神经系统、肌肉、肝脏、肾等能量代谢旺盛的器官或组织<sup>[36]</sup>。其中复合物 I 相关 MDs 是最常见的, 这与复合物 I 本身的结构有关。复合物 I 是最大的复合物, 所以亚单位组成最复杂, 突变的可能性也随之增加, 主要是 mtDNA 或 nDNA 编码的复合物 I 亚单位和特异性组装因子相关基因发生致病突变<sup>[37]</sup>。例如, 编码复合物 I 亚单位的 NDUFS 1~4、6~8、V1、V2、AI、A2、AII、FI 和 F2 基因突变

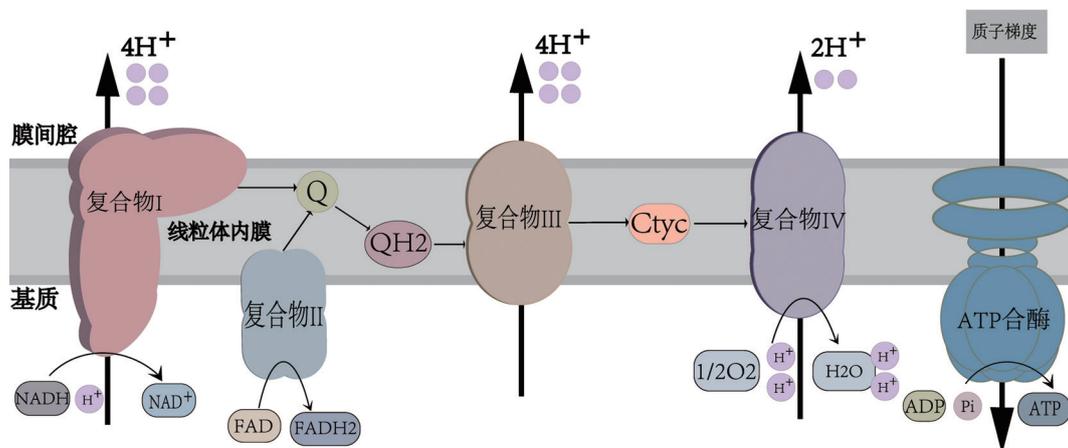


图1 电子传递链示意图

导致 Leigh 综合征<sup>[38]</sup>。单独的复合物 II 缺陷是一类比较罕见的线粒体病。复合物 II 由 4 个亚单位组成,且 4 个亚单位全部由核基因编码,编码基因 SDHA、SDHB、SDHC 和 SDHD 突变均可致病。也有研究表明,铜中毒可以诱导 ROS 的形成,使氧化磷酸化紊乱,降低线粒体膜电位,这也可视为导致复合物 II 功能异常的一种机制<sup>[39]</sup>,如 SDHA-SDHD 基因缺陷导致的 Leigh 综合征和肿瘤<sup>[40]</sup>。复合物 III 缺陷也是一类罕见的 MDs,其功能障碍与 MT-CYB (唯一由 mtDNA 单独编码的亚单位)的突变以及九个核基因(分别是 BCS1L、TTC19、UQCRB、UQCRCQ、UQCRC2、CYC1、UQCRC3、LYRM7、UQCRC3)有关,它们都是复合物 III 的组装因子。例如,位于纯合子区域内的 TTC19 基因突变会导致复合物 III 功能障碍,并且有研究发现 11 名 TTC19 突变导致复合物 III 功能障碍的患者表现出一个共同的特征,即进行性神经退化,并伴有类似 Leigh 综合征的大脑 MRI 异常<sup>[41-43]</sup>。复合物 IV 缺陷是由于编码亚单位的 mtDNA (MT-CO1、MT-CO2、MT-CO3) 或 nDNA 基因突变或其组装因子 (COX10、COX14、COA3、COA1 和 MITRAC7 等) 形成障碍,进而导致复合物 IV 功能障碍,如由 SURF1、SCO1、SCO2 等基因缺陷导致的 Leigh 综合征及肝功能衰竭<sup>[44-45]</sup>。复合物 V 缺陷的病例很少见,目前认为造成复合物 V 缺陷的原因主要有 MT-ATP6、MT-ATP8、ATPAF2、TMEM70 和 ATP5E 基因突变<sup>[46]</sup>。据国内外相关研究报道,线粒体电子传递链多种复合物联合缺陷发生率高于单种复合物缺陷,是引起 MDs 的重要病因。例如,由编码复合物 I、III、IV 和 V 的 mtDNA (与 mtDNA 缺失相关的 SUCLA2 或 SUCLG1 等) 发生突变而引起 mtDNA 复制或翻译异常,进而导致联合性 OXPHOS 缺陷症<sup>[47]</sup>。

#### 4 电子传递链复合物 I 功能障碍的治疗方法

目前在临床上补充维生素或辅因子的措施其实仅对某些线粒体电子传递链复合物 I 功能障碍有用。复合物 I 相关 MDs 还可能由许多因素引发<sup>[48]</sup>。近年来,随着生命科学技术的蓬勃发展,人们提出了一些新的线粒体疾病的治疗方法:基因治疗、调控转录调节因子、利用亚硝酸盐调节代谢、过度激活三磷酸甘油酸循环、线粒体置换技术等。

其中基因治疗是一种可用于治疗由核基因突变引发的复合物 I 缺陷的方法。基因治疗是通过导入特定突变基因序列来挽救基因突变导致的功能缺

陷,或促使异质性的转变以降低突变型与野生型基因组的比例来实现的。目前基因治疗在 LHON 的治疗中取得了相当大的进展。腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV) 能够携带线粒体基因,其衣壳 VP2 与线粒体靶向序列融合而将 AAV 靶向到线粒体,从而实现 LHON 最常见的致病基因突变 ND4 的表达,使电子传递链功能恢复正常,ATP 恢复合成<sup>[49]</sup>。同样地,也有研究使用 AAV-Fdxr (一种线粒体蛋白) 来治疗线粒体 p.Arg389Gln 突变 (Fdxr 表达障碍) 的小鼠模型,显著改善了线粒体功能障碍<sup>[50]</sup>。酵母线粒体不含复合物 I,但含有 3 种鱼藤酮 (复合物 I 的抑制剂) 不敏感的 NADH 脱氢酶,能够直接催化电子从 NADH 转移到泛醌<sup>[51]</sup>。最近的研究发现酵母细胞 NADH 脱氢酶 ND11 可以修复鱼藤酮诱导的帕金森小鼠模型的氧化磷酸化缺陷,从而改善神经病理损害<sup>[52]</sup>。目前,各种基因治疗方式正在被积极探索中,具有广阔的临床应用前景。

酶在生物体内的生化反应中起到至关重要的作用,通过外源提供特定酶可阻止或延缓病变过程的发展,从而能在一定程度上缓解疾病症状,甚至达到治疗疾病的目的。从鹰嘴豆中提取的鹰嘴豆黄酮类粗提物可以通过恢复 NAD<sup>+</sup>/NADH 平衡改善线粒体复合物 I 功能障碍大鼠的症状,从而治疗因 NAD<sup>+</sup>/NADH 氧化还原平衡严重失调导致的糖尿病<sup>[53]</sup>。亚硝酸盐在代谢调控过程中发挥重要作用,其耐受性与抑制乙醛脱氢酶抑制的生物转化过程及线粒体电子传递链解偶联有关,通过使用亚硝酸供体可逆性修饰复合物 I 亚单位,激活复合物 I S-亚硝化与抗氧化剂 Nrf2 的下游通路,可以保护再灌注后的氧化损伤,实现复合物 I 靶向治疗。亚硝酸盐还能改善线粒体功能,例如激活内源性抗氧化防御系统从而纠正患者成纤维细胞中受损的线粒体生物学功能<sup>[54]</sup>。近来有研究发现,磷酸二羟丙酮 (dihydroxyacetone phosphate, DHAP) 经 Gro3P 合成酶 (NAD<sup>+</sup>-dependent cytosolic Gro3P dehydrogenases, GPD1) 催化后生成三磷酸甘油酸 (glycerol-3-phosphate, Gro3P),在这一过程中 NADH 转化为 NAD<sup>+</sup>,从而绕过复合物 I 继续把电子传递下去<sup>[55]</sup>。因此,这种 NAD<sup>+</sup> 再生的旁路途径可能成为复合物 I 功能障碍的替代疗法。近年来,线粒体生物发生的靶向治疗也展现出广阔的治疗前景。通过增加/提高细胞内线粒体的数量和质量,电子传递链可以产生更多 ATP,来满足机体所需。Sirtuins 是酵母沉默信息调节因子 2 (Sirt2) 基因的哺乳动物同源基因,是多种

蛋白质的重要调节因子,也是激活线粒体生物发生的靶点。Sirtuin 1 是一种  $\text{NAD}^+$  依赖的蛋白去乙酰化酶,激活后通过提高线粒体电子传递链活性和 OXPHOS 相关基因的转录水平来增强线粒体的生物发生和功能<sup>[56]</sup>。此外,烟酰胺核苷(nicotinamide nucleoside, NR)是维生素 B3 的一种形式,作为一种天然的  $\text{NAD}^+$  前体,补充烟酰胺核苷可以增加  $\text{NAD}^+$  的生物利用度<sup>[57]</sup>。

## 5 电子传递链复合物II功能障碍的治疗方法

虽然复合物 II 相关 MDs 较为罕见,但具有多种临床表现,主要体现为神经和肌肉的进行性受损,例如智力和运动能力倒退、共济失调、Leigh 综合征。在与之相关的神经退行性疾病的治疗中,内源性大麻素有潜在的治疗效果。油酰胺(oleamide, OEA)可以通过激活大麻素受体和诱导抗氧化反应来减轻 3 硝基丙酸(3-nitropropionic acid, 3-NP)诱发的大鼠皮层线粒体复合物 II 功能障碍。但是,OEA 对 3-NP 的毒性只能起较好的保护作用,并不能逆转已被 3-NP 诱导的线粒体损伤,且大麻素受体的作用和 OEA 的具体作用机制还有待进一步研究<sup>[58]</sup>。核黄素可以通过为复合物 II 提供辅助因子来促进相关蛋白质的合成,因此维生素 B2 可以被用于复合物 II 缺陷的治疗。Pinard 等<sup>[59]</sup>曾报道对 1 例 10 月龄复合物 II 缺陷患儿给予维生素 B2 治疗,4 年后其精神运动发育有较为显著的改善。也有研究人员发现,UCF-101 (一种促凋亡蛋白酶 Omi/HtrA2 抑制剂)可以逆转盲肠结扎和穿刺(cecal ligation and puncture, CLP)引起的雄性大鼠复合物 I、II、III 功能异常和 ATP 生成减少,显著改善相应的临床症状<sup>[60]</sup>。

## 6 电子传递链复合物III功能障碍的治疗方法

由于复合物 III 功能障碍 MDs 的治疗方法有其独特性,所以传统的补充  $\text{NAD}^+$  的方法并没有太好的效果<sup>[61]</sup>。有研究发现高脂肪、低碳水化合物的生酮饮食(etogenic-diet, KD)在线粒体肌病小鼠模型中表现出了积极的治疗作用,使小鼠肝细胞复合物 III 的活性得到改善、线粒体形态正常化,从而减轻由 Bcs1L 突变引起的线粒体疾病<sup>[62]</sup>。另一项研究发现绿脓菌素(pyocyanin, PYO)具有电子分流器的功能,可以替代复合物 III 的氧化还原功能,使线粒体膜电位正常化,并轻度增加 ROS 产生,在复合物 III 缺陷的情况下使 ATP 产生增加。因此,可以利用绿脓菌素的氧化还原作用来治疗复合物 III 功

能障碍性疾病。虽然高浓度的 PYO (50~100  $\mu\text{mol/L}$ ) 可能引起氧化应激并且产生毒性,但低浓度的 PYO 能够作为电子穿梭物将 NADH 或泛醌中的电子穿梭到复合物 III 中,可以有效恢复线粒体功能,从而有助于 ATP 的产生;而且最重要的是,长期给予小鼠低浓度 PYO 不会引起毒性和氧化应激,这说明低浓度 PYO 并不会在体内长期积累从而产生毒性,这为 PYO 作为线粒体电子传递链复合物 III 功能障碍的有效治疗方法提供了依据<sup>[63]</sup>。这也表明低浓度 PYO 是针对复合物 III 缺陷 MDs 的有希望的治疗策略。

## 7 电子传递链复合物IV功能障碍的治疗方法

复合物 IV 具有催化氧气还原成水的作用,近年来,针对复合物 IV 相关 MDs 的治疗方法也取得了一些进展。例如,在复合物 IV 突变的小鼠模型中,注射安全剂量的 AAV9/hSURF1 载体可以增加 SURF1 mRNA 的表达,以此来缓解过量位点蛋白 1 (surfeit locus protein 1, SURF1) 相关的 Leigh 综合征,并且在长达一年对小鼠的检测中都没有发现不良反应<sup>[64]</sup>。目前有研究通过基因编辑特异消除突变的线粒体基因组来治疗复合物 IV 功能障碍所致的 MDs。例如,通过设计具有高度特异的突变 mtDNA 靶向能力的 mitoTALENs (一种核酸酶),可显著减少突变 mtDNA 并诱导患者的多能干细胞发生代谢异质性转移<sup>[65]</sup>。选择性氧化酶(alternative oxidase, AOX)是一种单一的多肽氧化酶,可以直接将电子从泛醌传递到分子氧,从而绕过电子传递链上的复合物 III 和 IV<sup>[66]</sup>。AOX 不仅可以作为细胞色素链的旁路,绕过细胞色素链缺陷,还能为细胞提供有效的抗氧化防御能力。研究表明 AOX 可以挽救 COX 10 缺失所致的 COX 酶功能缺陷,在抗霉素处理过的 COX 缺陷型细胞中,给予 AOX 治疗后细胞存活率大大提升,且超氧化物的产生也大量减少<sup>[67-68]</sup>。

## 8 电子传递链复合物V功能障碍的治疗方法

虽然复合物 V 异常导致的 MDs 发生率较低,但随着分子生物学发展以及对复合物 V 结构的进一步研究,对于复合物 V 功能障碍的治疗在近年来也取得了一定的成果。目前用于复合物 V 功能障碍的治疗方法主要有药物治疗、基因治疗等。

传统的药物治疗包括利用 N-乙酰半胱氨酸(N-acetyl-cysteine, NAC)、二氢硫辛酸(dihydrolipoic acid, DHLA)等抗氧化剂促进 ROS 清除,辅酶 Q10

促进氧化磷酸化以及维生素 B1、维生素 C、左卡尼汀等提高线粒体功能,但它们的疗效往往有限<sup>[69-70]</sup>。抗氧化剂褪黑素主要抑制线粒体心磷脂 (cardiolipin, CL) 过度耗竭,而 CL 与线粒体动力学相关并在抵抗线粒体氧化应激、Ca<sup>2+</sup> 应激和脂质应激方面发挥保护作用,从而抑制细胞损伤、凋亡<sup>[71]</sup>。随着分子生物学的发展,基因治疗逐渐成为治疗研究的重点。在突变细胞中使用重组线粒体靶向 SmaI 限制酶可识别由 m.8993 T>G 突变形成的 GGGCCC 序列, SmaI 一旦进入线粒体内部,就会破坏突变 mtDNA 分子,并促进患者细胞中正常 mtDNA 的增殖,从而降低 mtDNA 突变负荷,增强细胞氧化磷酸化的功能<sup>[72-73]</sup>。目前,还有研究使用锌指核酸酶 (zinc finger nuclease, ZFN)、转录激活因子样效应物核酸酶 (transcription activator-like (TAL) effector nucleases, TALEN) 和巨核酸酶进行突变 mtDNA 编辑治疗,这些酶都是通过 N 端的线粒体靶向序列 (mitochondrial targeting sequence, MTS) 来靶向 mtDNA<sup>[74]</sup>。表 1 对电子传递链复合物 I~V 功能障碍相关的疾病以及治疗方法进行了汇总。

## 9 人类电子传递链缺陷相关 MDs 的治疗前景和目前存在的困难

### 9.1 治疗前景

近些年来,MDs 的诊断和机制研究取得了巨大的突破;与此同时,MDs 的治疗研究也取得了一定的进展。分子生物学技术的进步为 MDs 的靶向治疗提供了可行的方案,针对突变位点采取特异性治疗理论上应该具有很好的疗效。基因治疗、基因

编辑以及 MRT 是最有希望从根本上治疗 MDs 的方式。在大多数情况下,致病性 mtDNA 突变是异质性的,残留的野生型 mtDNA 可以部分弥补突变型 mtDNA,发挥其代偿作用。在出现临床表型的组织或器官中,突变型 mtDNA 的水平通常要高于 80%。有研究通过 MRT 技术,使用来自健康供体的正常线粒体替换异常线粒体来预防后代 MDs 的发生。相比于纺锤体-染色体复合物转移 (spindle-chromosome transfer, ST) 和原核转移 (pronuclear transfer, PNT),在利用极体移植 (polar body transfer, PBT) 技术生成的子代小鼠中,核供体 mtDNA 携带率几乎为 0,可以有效地预防 mtDNA 突变 MDs 传递给后代<sup>[65]</sup>。到目前为止,许多靶向治疗的方法也已经在动物中或者临床上开展并取得了一定的疗效。导入正常的 mtDNA 或必需蛋白、修复或消除突变 mtDNA 是线粒体疾病的重要治疗策略。例如, Mok 等<sup>[75]</sup> 利用 MTS- 和 TALE- 偶联的双链 DNA 脱氨酶毒素 A (double-stranded DNA deaminase toxin A, DddA) 以较高的靶向特异性和编辑精度成功地将 mtDNA 中的 C·G 转化为 T·A。还有研究发现,由腺相关病毒传递的线粒体靶向锌指核酸酶 (mtZFNs) 诱导了整个心脏突变 mtDNA 的特异性消除,并伴有分子和生化表型的逆转<sup>[76]</sup>。随着对 MDs 发病机制的深入研究,一些新的药物也开始被用于 MDs 治疗。例如,异常钙稳态是许多 MDs 的共同特点,而右普拉克 (dexpropipexole, DEX) 是 F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP 合酶激活剂,能够增加 ATP 产生、减少 O<sub>2</sub> 消耗。利用 DEX 靶向 F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATP 合酶,有助于构建线粒体通透性转换孔的大分子复合体,从而防止高 Ca<sup>2+</sup> 浓度或缺氧诱导的

表1 电子传递链复合物突变基因类型、导致的疾病和治疗方法

复合物类型	部分相关基因	部分相关疾病	治疗方法	参考文献
复合物I	<i>NDUFS1~4</i>	脑脊髓白质病	基因治疗、调控转录调节因子、利用亚硝酸盐调节代谢、过度激活三磷酸甘油酸循环、线粒体置换技术	[49-57]
	<i>NDUFS6~8</i>	Leigh综合征		
	<i>ND1~6</i>	莱伯遗传性视神经病变		
	<i>NDUFV1-2</i>	帕金森综合征		
复合物II	<i>SDHA</i>	Leigh综合征	激活大麻素受体、补充核黄素、线粒体置换技术	[58-60]
	<i>SDHAF1</i>	Leigh综合征		
复合物III	<i>TTC19</i>	进行性神经退化	绿脓菌素、生酮饮食、线粒体置换技术	[62-63]
	<i>BCS1L</i>	Bjornstad综合征		
复合物IV	<i>SURF1</i>	肝功能衰竭	基因治疗、基因编辑、交替氧化酶、线粒体置换技术	[64-67]
	<i>SCO1</i>	Leigh综合征		
	<i>MT-COX1</i>	Leigh综合征		
复合物V	<i>MT ATP6</i>	进行性神经退化	药物治疗如褪黑素、N-乙酰半胱氨酸等, 基因治疗, 线粒体置换技术	[69-74]
	<i>TMEM70</i>	Bjornstad综合征		

离子电导增加和线粒体肿胀, 保护受损神经元的细胞器功能和  $\text{Ca}^{2+}$  稳态, 并维持 ATP 的生成, 因而 DEX 成为 MDs 的潜在治疗药物。线粒体本身的自噬、融合以及裂变对线粒体的功能也有重要的调节作用。最近有研究发现, 通过光遗传学控制线粒体与溶酶体的接触能诱导线粒体裂变, 从而恢复线粒体功能障碍细胞的部分功能<sup>[77]</sup>。细胞内  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  氧化还原平衡是细胞维持正常代谢的基础<sup>[78]</sup>。电子传递链功能障碍导致  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  比值失衡和 ROS 的增加, 引起蛋白质、脂质和 DNA 的氧化损伤, 进一步造成细胞损伤和功能障碍, 而抗氧化剂可以减轻 ROS 产生的毒性作用。线粒体联合疗法, 即维生素、辅助因子、营养素和抗氧化剂的组合, 可通过消除累积 ROS、增加 ATP 生成, 达到缓解症状、限制疾病进展的目的<sup>[79]</sup>。

## 9.2 治疗困难

虽然多种靶向 MDs 的治疗方法都显示出有效的治疗效果, 但其中只有少数已完成或正在进行临床试验<sup>[80]</sup>。MDs 的各类治疗药物或方法由于缺乏大量的临床试验, 难以形成其疗效的确切证据, 因而无法在临床上广泛应用。基因治疗目前虽然在 LHON 的治疗中显示出良好效果, 但是巨额的医疗费用是限制其进一步推广的巨大障碍。虽然基因组编辑器可以提供有效的治疗效果, 但基因组编辑器的持续表达可能会对宿主细胞产生不利的细胞毒性; 而且, 设计出能准确靶向线粒体的载体也是一个巨大挑战; 并且, 目前首个接受基因编辑技术 CRISPR 治疗的患者在治疗过程中死亡, 所以基因治疗的安全性值得商榷<sup>[81]</sup>。MRT 虽然可以大幅减少突变的线粒体, 但其涉及的伦理问题以及胚胎之后的发育问题仍需进一步研究。而 MDs 药物的疗效也由于发病类型的不同和个体差异而存在差异, 并且药物的副作用也是一个无法回避的问题。目前对 MDs 的治疗很大程度上仍是对症治疗, 而非病因治疗, 绝大多数治疗方法并不会改变疾病病程进展。

## 10 展望

线粒体是细胞进行氧化供能的主要场所, 维持线粒体的正常结构与功能对细胞的生命活动极为重要。近些年, 国内外对线粒体电子传递链复合物的认识和对 MDs 的诊断不断突破, 而 MDs 治疗目前主要包括补充电子传递链所需辅酶、靶向药物治疗、基因治疗和 MRT 等手段。虽然目前线粒体基因编

辑技术还不够成熟, 基因编辑器的转载效率有待提高, 但其治疗潜力是毋庸置疑的, 因为它可以从源头上治疗 MDs。因此, 未来该技术的发展应该主要集中在载体设计上, 以便准确靶向体内线粒体以及对 mtDNA 进行编辑。当这些困难最终被克服时, 人们有希望更深入地了解线粒体生物发生的机制, 并有可能研发出遗传性线粒体疾病的创新性治疗方法。不单单是对 ETC 上不同复合物功能障碍采取针对性治疗, 而且以 ETC 为整体采取置换治疗或联合疗法也是伴随对发病机制的深入研究和科学技术的发展而产生的。相信随着科学技术的进步, 线粒体电子传递链分子结构将被进一步阐明, 并有望开发出更加有效的治疗手段, 从而恢复受损电子传递链功能, 保护线粒体的正常功能。

## [参 考 文 献]

- [1] Ng YS, Bindoff LA, Gorman GS, et al. Mitochondrial disease in adults: recent advances and future promise. *Lancet Neurol*, 2021, 20: 573-84
- [2] Lightowlers RN, Taylor RW, Turnbull DM. Mutations causing mitochondrial disease: what is new and what challenges remain? *Science*, 2015, 349: 1494-9
- [3] Shamma MK, Huang X, Wu BP, et al. OMA1 mediates local and global stress responses against protein misfolding in CHCHD10 mitochondrial myopathy. *J Clin Invest*, 2022, 132: e157504
- [4] Bonora E, Chakrabarty S, Kellaris G, et al. Biallelic variants in *LIG3* cause a novel mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy. *Brain*, 2021, 144: 1451-66
- [5] Cogliati S, Lorenzi I, Rigoni G, et al. Regulation of mitochondrial electron transport chain assembly. *J Mol Biol*, 2018, 430: 4849-73
- [6] Mukherjee S, Ghosh A. Molecular mechanism of mitochondrial respiratory chain assembly and its relation to mitochondrial diseases. *Mitochondrion*, 2020, 53: 1-20
- [7] Cogliati S, Cabrera-Alarcon JL, Enriquez JA. Regulation and functional role of the electron transport chain supercomplexes. *Biochem Soc Trans*, 2021, 49: 2655-68
- [8] Frye RE. Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorder: unique abnormalities and targeted treatments. *Semin Pediatr Neurol*, 2020, 35: 100829
- [9] Davis RL, Liang C, Sue CM. Mitochondrial diseases. *Handb Clin Neurol*, 2018, 147: 125-141
- [10] De Maria M, Barbiera F, Lo CA, et al. Biomechanical correlations of lesions associated with traumatic diseases of the anterior cruciate ligament. analysis with magnetic resonance. *Radiol Med*, 1996, 91: 693-9
- [11] Radelfahr F, Klopstock T. Mitochondrial diseases. *Nervenarzt*, 2019, 90: 121-30
- [12] Kowalczyk P, Sulejczak D, Kleczkowska P, et al. Mitochondrial oxidative stress -- a causative factor and therapeutic target in many diseases. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 13384

- [13] Rahman S. Mitochondrial disease and epilepsy. *Dev Med Child Neurol*, 2012, 54: 397-406
- [14] Brito S, Thompson K, Campistol J, et al. Long-term survival in a child with severe encephalopathy, multiple respiratory chain deficiency and GFM1 mutations. *Front Genet*, 2015, 6: 102
- [15] Rotig A, Colonna M, Bonnefont JP, et al. Mitochondrial DNA deletion in Pearson's marrow/pancreas syndrome. *Lancet*, 1989, 1: 902-3
- [16] Pavlakis SG, Phillips PC, Dimauro S, et al. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: a distinctive clinical syndrome. *Ann Neurol*, 1984, 16: 481-8
- [17] Gorman GS, Chinnery PF, Dimauro S, et al. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16080
- [18] Molnar MJ, Kovacs GG. Mitochondrial diseases. *Handb Clin Neurol*, 2017, 145: 147-55
- [19] Zou W, Chen Q, Slone J, et al. Nanoscopic quantification of sub-mitochondrial morphology, mitophagy and mitochondrial dynamics in living cells derived from patients with mitochondrial diseases. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19: 136
- [20] Viscomi C, Zeviani M. Strategies for fighting mitochondrial diseases. *J Intern Med*, 2020, 287: 665-84
- [21] Javadov S, Jang S, Chapa-Dubocq XR, et al. Mitochondrial respiratory supercomplexes in mammalian cells: structural versus functional role. *J Mol Med (Berl)*, 2021, 99: 57-73
- [22] Signes A, Fernandez-Vizarrá E. Assembly of mammalian oxidative phosphorylation complexes I-V and supercomplexes. *Essays Biochem*, 2018, 62: 255-70
- [23] Rasheed M, Tarjan G. Succinate dehydrogenase complex: an updated review. *Arch Pathol Lab Med*, 2018, 142: 1564-70
- [24] Protasoni M, Perez-Perez R, Lobo-Jarne T, et al. Respiratory supercomplexes act as a platform for complex III-mediated maturation of human mitochondrial complexes I and IV. *EMBO J*, 2020, 39: e102817
- [25] Marechal A, Xu JY, Genko N, et al. A common coupling mechanism for A-type heme-copper oxidases from bacteria to mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117: 9349-55
- [26] Timon-Gomez A, Nyvtova E, Abriata LA, et al. Mitochondrial cytochrome c oxidase biogenesis: recent developments. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 76: 163-78
- [27] Pecina P, Nuskova H, Karbanova V, et al. Role of the mitochondrial ATP synthase central stalk subunits  $\gamma$  and  $\delta$  in the activity and assembly of the mammalian enzyme. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*, 2018, 1859: 374-81
- [28] Nolfi-Donagan D, Braganza A, Shiva S. Mitochondrial electron transport chain: oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biol*, 2020, 37: 101674
- [29] Sousa JS, D'Imprima E, Vonck J. Mitochondrial respiratory chain complexes. *Subcell Biochem*, 2018, 87: 167-227
- [30] He J, Ford HC, Carroll J, et al. Assembly of the membrane domain of ATP synthase in human mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: 2988-93
- [31] Guo H, Bueler SA, Rubinstein JL. Atomic model for the dimeric FO region of mitochondrial ATP synthase. *Science*, 2017, 358: 936-40
- [32] Davies KM, Blum TB, Kuhlbrandt W. Conserved *in situ* arrangement of complex I and III2 in mitochondrial respiratory chain supercomplexes of mammals, yeast, and plants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: 3024-9
- [33] Schagger H, Pfeiffer K. Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria. *EMBO J*, 2000, 19: 1777-83
- [34] Letts JA, Sazanov LA. Clarifying the supercomplex: the higher-order organization of the mitochondrial electron transport chain. *Nat Struct Mol Biol*, 2017, 24: 800-8
- [35] Vercellino I, Sazanov LA. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23: 141-61
- [36] Christodoulou J. Genetic defects causing mitochondrial respiratory chain disorders and disease. *Hum Reprod*, 2000, 15 Suppl 2: 28-43
- [37] Protasoni M, Zeviani M. Mitochondrial structure and bioenergetics in normal and disease conditions. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 586
- [38] Schapira AH. Mitochondrial diseases. *Lancet*, 2012, 379: 1825-34
- [39] Hosseini MJ, Shaki F, Ghazi-Khansari M, et al. Toxicity of copper on isolated liver mitochondria: impairment at complexes I, II, and IV leads to increased ROS production. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 70: 367-81
- [40] Ghezzi D, Zeviani M. Human diseases associated with defects in assembly of OXPHOS complexes. *Essays Biochem*, 2018, 62: 271-86
- [41] Baker RA, Priestley J, Wilstermann AM, et al. Clinical spectrum of BCS1L mitopathies and their underlying structural relationships. *Am J Med Genet A*, 2019, 179: 373-80
- [42] Benit P, Lebon S, Rustin P. Respiratory-chain diseases related to complex III deficiency. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793: 181-5
- [43] Mordaunt DA, Jolley A, Balasubramaniam S, et al. Phenotypic variation of *TTC19*-deficient mitochondrial complex III deficiency: a case report and literature review. *Am J Med Genet A*, 2015, 167: 1330-6
- [44] Brischiari M, Zeviani M. Cytochrome C oxidase deficiency. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*, 2021, 1862: 148335
- [45] Taanman JW, Williams SL. Assembly of cytochrome c oxidase: what can we learn from patients with cytochrome c oxidase deficiency? *Biochem Soc Trans*, 2001, 29: 446-51
- [46] 李溪远, 杨艳玲. 线粒体呼吸链酶复合物V缺陷与线粒体病. *中国当代儿科杂志*, 2013, 15: 596-601
- [47] Lake NJ, Compton AG, Rahman S, et al. Leigh syndrome: one disorder, more than 75 monogenic causes. *Ann Neurol*, 2016, 79: 190-203
- [48] Koene S, Smeitink J. Mitochondrial medicine: entering the era of treatment. *J Intern Med*, 2009, 265: 193-209

- [49] Finsterer J, Zarrouk-Mahjoub S. Re: Guy et al.: Gene therapy for leber hereditary optic neuropathy: low-and medium-dose visual results. *Ophthalmology*, 2018, 125: e14-5
- [50] Yang L, Slone J, Zou W, et al. Systemic delivery of AAV-Fdxr mitigates the phenotypes of mitochondrial disorders in Fdxr mutant mice. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2020, 18: 84-97
- [51] Matus-Ortega MG, Cárdenas-Monroy CA, Flores-Herrera O, et al. New complexes containing the internal alternative NADH dehydrogenase (Ndi1) in mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 2015, 32: 629-641
- [52] Li H, Sun B, Huang Y, et al. Gene therapy of yeast NDI1 on mitochondrial complex I dysfunction in rotenone-induced Parkinson's disease models *in vitro* and *vivo*. *Mol Med*, 2022, 28: 29
- [53] Fu Y, Li Z, Xiao S, et al. Ameliorative effects of chickpea flavonoids on redox imbalance and mitochondrial complex I dysfunction in type 2 diabetic rats. *Food Funct*, 2022, 13: 8967-76
- [54] Milanese C, Tapias V, Gabriels S, et al. Mitochondrial complex I reversible s-nitrosation improves bioenergetics and is protective in Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28: 44-61
- [55] Liu S, Fu S, Wang G, et al. Glycerol-3-phosphate biosynthesis regenerates cytosolic NAD<sup>+</sup> to alleviate mitochondrial disease. *Cell metabolism*, 2021, 33: 1974-87
- [56] Scarpelli M, Todeschini A, Rinaldi F, et al. Strategies for treating mitochondrial disorders: an update. *Mol Genet Metab*, 2014, 113: 253-60
- [57] Brakedal B, Dolle C, Riemer F, et al. The NADPARK study: a randomized phase I trial of nicotinamide riboside supplementation in Parkinson's disease. *Cell Metab*, 2022, 34: 396-407
- [58] Reyes-Soto CY, Villaseca-Flores M, Ovalle-Noguez EA, et al. Oleamide reduces mitochondrial dysfunction and toxicity in rat cortical slices through the combined action of cannabinoid receptors activation and induction of antioxidant activity. *Neurotox Res*, 2022, 40: 2167-78
- [59] Pinar JM, Marsac C, Barkaoui E, et al. Leigh syndrome and leukodystrophy due to partial succinate dehydrogenase deficiency: regression with riboflavin. *Arch Pediatr*, 1999, 6: 421-6
- [60] Wang P, Hu Y, Yao D, et al. Omi/HtrA2 regulates a mitochondria-dependent apoptotic pathway in a murine model of septic encephalopathy. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49: 2163-73
- [61] Purhonen J, Rajendran J, Tegelberg S, et al. NAD<sup>+</sup> repletion produces no therapeutic effect in mice with respiratory chain complex III deficiency and chronic energy deprivation. *FASEB J*, 2018, 32: 5913-26
- [62] Purhonen J, Rajendran J, Morgelin M, et al. Ketogenic diet attenuates hepatopathy in mouse model of respiratory chain complex III deficiency caused by a *Bcs1l* mutation. *Sci Rep*, 2017, 7: 957
- [63] Peruzzo R, Corra S, Costa R, et al. Exploiting pyocyanin to treat mitochondrial disease due to respiratory complex III dysfunction. *Nat Commun*, 2021, 12: 2103
- [64] Ling Q, Rioux M, Hu Y, et al. Adeno-associated viral vector serotype 9-based gene replacement therapy for SURF1-related Leigh syndrome. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2021, 23: 158-68
- [65] Yang Y, Wu H, Kang X, et al. Targeted elimination of mutant mitochondrial DNA in MELAS-iPSCs by mitoTALENs. *Protein Cell*, 2018, 9: 283-97
- [66] Siedow JN, Umbach AL. The mitochondrial cyanide-resistant oxidase: structural conservation amid regulatory diversity. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1459: 432-9
- [67] Dassa EP, Dufour E, Goncalves S, et al. Expression of the alternative oxidase complements cytochrome c oxidase deficiency in human cells. *EMBO Mol Med*, 2009, 1: 30-6
- [68] Dassa EP, Dufour E, Goncalves S, et al. The alternative oxidase, a tool for compensating cytochrome c oxidase deficiency in human cells. *Physiol Plant*, 2009, 137: 427-34
- [69] Zeviani M, Carelli V. Mitochondrial retinopathies. *Int J Mol Sci*, 2021, 23: 210
- [70] Mattiazzi M, Vijayvergiya C, Gajewski CD, et al. The mtDNA T8993G (NARP) mutation results in an impairment of oxidative phosphorylation that can be improved by antioxidants. *Hum Mol Genet*, 2004, 13: 869-79
- [71] Peng TI, Hsiao CW, Reiter RJ, et al. mtDNA T8993G mutation-induced mitochondrial complex V inhibition augments cardiolipin-dependent alterations in mitochondrial dynamics during oxidative, Ca<sup>2+</sup>, and lipid insults in NARP cybrids: a potential therapeutic target for melatonin. *J Pineal Res*, 2012, 52: 93-106
- [72] Iyer S, Bergquist K, Young K, et al. Mitochondrial gene therapy improves respiration, biogenesis, and transcription in G11778A Leber's hereditary optic neuropathy and T8993G Leigh's syndrome cells. *Hum Gene Ther*, 2012, 23: 647-57
- [73] Jurkute N, D'Esposito F, Robson AG, et al. SSBP1-disease update: expanding the genetic and clinical spectrum, reporting variable penetrance and confirming recessive inheritance. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2021, 62: 12
- [74] Invernizzi F, Legati A, Nasca A, et al. Myopathic mitochondrial DNA depletion syndrome associated with biallelic variants in LIG3. *Brain*, 2021, 144: e74
- [75] Mok BY, de Moraes MH, Zeng J, et al. A bacterial cytidine deaminase toxin enables CRISPR-free mitochondrial base editing. *Nature*, 2020, 583: 631-7
- [76] Gammage PA, Viscomi C, Simard ML, et al. Genome editing in mitochondria corrects a pathogenic mtDNA mutation *in vivo*. *Nat Med*, 2018, 24: 1691-5
- [77] Qiu K, Zou W, Fang H, et al. Light-activated mitochondrial fission through optogenetic control of mitochondria-lysosome contacts. *Nat Commun*, 2022, 13: 4303
- [78] Katsyuba E, Romani M, Hofer D, et al. NAD<sup>+</sup> homeostasis in health and disease. *Nat Metab*, 2020, 2: 9-31
- [79] Chib S, Singh S. Manganese and related neurotoxic pathways: a potential therapeutic target in neurodegenerative diseases.

Neurotoxicol Teratol, 2022, 94: 107124

- [80] Garone C, Viscomi C. Towards a therapy for mitochondrial disease: an update. *Biochem Soc Trans*, 2018, 46: 1247-61

- [81] 王聪. 一名DMD患者接受CRISPR基因编辑治疗后死亡, 引发对基因编辑疗法前景的担忧[EB/OL].(2022-11-08). [https://m.thepaper.cn/baijiahao\\_20631873](https://m.thepaper.cn/baijiahao_20631873)