

DOI: 10.13376/j.cbls/2023024

文章编号: 1004-0374(2023)02-0173-12

运动调控衰老骨骼肌UPRmt和线粒体自噬互作的机制

王艳^{1,2}, 李佳林², 王哲², 汪润姿², 张子怡², 薄海^{2,3*}, 张勇^{2*}

(1 北京体育大学运动人体科学学院, 北京 100084; 2 天津体育学院运动健康学院, 天津市运动生理学与运动医学重点实验室, 天津 301617; 3 武警后勤学院卫生勤务系, 天津 300162)

摘要: 衰老性肌萎缩中的线粒体功能障碍与线粒体未折叠蛋白反应 (mitochondrial unfolded protein response, UPRmt) 和线粒体自噬构成的线粒体质量控制 (mitochondrial quality control, MQC) 的损伤密切相关。线粒体质量控制是线粒体维持内环境稳态的保护机制, 其中 UPRmt 和线粒体自噬分别负责受损线粒体的修复和清除。UPRmt 应对未折叠蛋白应激, 维持线粒体和细胞蛋白质稳态, 延长寿命并调节代谢重构, 而线粒体自噬选择性地去除受损严重的线粒体, 两者共同维护线粒体稳态。本文总结 UPRmt 与线粒体自噬的互作、衰老骨骼肌 UPRmt 与线粒体自噬的变化和运动逆转衰老骨骼肌 UPRmt 和线粒体自噬的机制, 重点总结运动源的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 调控 UPRmt 与线粒体自噬互作的信号通路研究进展, 并为衰老性肌萎缩进程中线粒体质量控制的维持提供参考。

关键词: 线粒体质量控制; 衰老性肌萎缩; 有氧运动; 活性氧; 线粒体稳态

中图分类号: G804.2 文献标志码: A

The mechanisms of exercise-regulated interaction of UPRmt and mitophagy in aging skeletal muscle

WANG Yan^{1,2}, LI Jia-Lin², WANG Zhe², WANG Run-Zi², ZHANG Zi-Yi², BO Hai^{2,3*}, ZHANG Yong^{2*}

(1 School of Sport Science, Beijing Sport University, Beijing 100084, China; 2 Tianjin Key Laboratory of Exercise Physiology and Sports Medicine, School of Exercise & Health, Tianjin University of Sport, Tianjin 301617, China; 3 Department of Military Training Medicines, Logistics University of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China)

Abstract: Mitochondrial dysfunction in sarcopenia is closely related to disruption of mitochondrial quality control (MQC) constituted by mitochondrial unfolded protein response (UPRmt) and mitophagy. MQC is a protective mechanism for mitochondria to maintain homeostasis. UPRmt and mitophagy are responsible for the repair and clearance of mitochondrial damage, respectively. UPRmt responds to unfolded protein stress, maintains mitochondrial and cellular protein homeostasis, extends lifespan and regulates metabolic remodeling, while mitophagy selectively removes severely damaged mitochondria, both of which maintain mitochondrial homeostasis. This review summarizes the interaction between UPRmt and mitophagy, the changes of UPRmt and mitophagy, and the regulation of exercise on reversing UPRmt and mitophagy in aging skeletal muscle, with a focus on the signaling pathway of exercise-derived reactive oxygen species (ROS) in an attempt to provide supportive evidence for the maintenance of mitochondrial quality control in the process of sarcopenia.

Key words: mitochondrial quality control; sarcopenia; aerobic exercise; ROS; mitochondrial homeostasis

收稿日期: 2022-08-09; 修回日期: 2022-10-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(31771320, 32071177, 31571224); 天津市自然科学基金项目(19JCYB-JC25000)

*通信作者: E-mail: yzhang@tj.us.edu.cn (张勇); bohaixd@126.com (薄海)

骨骼肌功能下降与运动能力丧失、代谢功能障碍、慢性病易感性和死亡率增加有关。线粒体参与骨骼肌能量生成、氧化应激、钙稳态、机体固有免疫与炎症以及细胞死亡^[1]。缺氧、代谢应激、线粒体活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和蛋白质折叠或输入缺陷等都可能引起线粒体稳态异常, 导致与多种疾病相关的线粒体功能障碍^[2-3]。线粒体质量控制 (mitochondrial quality control, MQC) 是机体内环境稳态的应激机制, 涉及多个系统, 其中的四个主要系统是线粒体未折叠蛋白反应 (mitochondrial unfolded protein response, UPRmt)、动力学、自噬和生物发生^[4]。UPRmt 和线粒体自噬分别负责受损线粒体的修复和清除, 以维持线粒体稳态并防止细胞死亡^[5]。UPRmt 应对未折叠蛋白应激, 并在胰岛素抵抗、心血管疾病、癌症、神经退行性疾病、干细胞调节和衰老等过程中发挥重要作用^[6]。线粒体自噬选择性地去除受损严重的线粒体, 在维持线粒体稳态和衰老相关退行性疾病中也发挥重要作用。线粒体功能障碍被认为是年龄依赖性骨骼肌退化的主要因素^[7], UPRmt 和线粒体自噬损伤与衰老性肌萎缩关系密切^[8-10]。此外, 线粒体通过产生活性氧在细胞信号转导中发挥关键作用。

1 UPRmt的生物学机制

UPRmt 维持线粒体和细胞蛋白质稳态^[11], 延长寿命^[12], 并调节代谢重构^[13]。尽管无脊椎动物和哺乳动物的 UPRmt 之间存在差异^[14], 但线粒体氧化应激等各类应激源在不同物种中都会导致线粒体未折叠或错误折叠蛋白的累积^[15], 当这种累积超过线粒体中 UPRmt 常驻因子的清除能力时, UPRmt 会被激活^[16]。此时的线粒体向细胞核传递早期的应激预警信号激活转录因子 5 (activating transcription factor 5, ATF5), 以促进更多的 UPRmt 因子, 包括分子伴侣 HSP60/HSP10、mtHSP70 和蛋白酶 CLPP、LONP1 的转录和运输, 从而修复线粒体。因此, UPRmt 作为 MQC 的“监督和维修”系统, 被认为是挽救线粒体蛋白质稳态的一线反应^[17]。UPRmt 至少通过三条信号通路维持线粒体蛋白质稳态: 经典的 ATF4/ATF5/CHOP 通路通过调控分子伴侣介导的折叠功能和蛋白酶介导的降解功能来缓解线粒体基质中的应激毒性^[18-20]; SIRT3/FOXO3a/SOD2 通路在线粒体基质中对抗氧化损伤^[21]; ER α /NRF1/HTRA2 通路主要去除线粒体膜间隙中的未折叠蛋白^[22]。近年发现, 热休克转录因子 HSF1 也能直接

调节哺乳动物 UPRmt 分子伴侣的转录^[17]。细胞质中的未折叠蛋白被输入线粒体并被 UPRmt 蛋白酶降解, 称为“MAGIC”(线粒体作为细胞质中的守护者)^[11], 这一过程突出了 UPRmt 在保护整个细胞蛋白质稳态中的重要作用^[23]。例如, 与家族性帕金森病相关的 DJ-1 突变蛋白暴露了其 N 端线粒体靶向信号, 并从细胞质转位到线粒体基质, 然后被位于线粒体基质的蛋白酶 LONP1 降解^[24]。UPRmt 延长低等生物和哺乳动物寿命的证据也被广泛报道^[25], 其中一些是通过非自主激活的跨器官方式进行调控^[26]。发育期间线粒体应激引起的 UPRmt 表观遗传记忆与线虫寿命的延长密切相关^[27]。然而, UPRmt 激活需要以暂停有氧代谢和增加无氧代谢为代价^[13, 28]。此外, 持续的 UPRmt 激活可能通过促进分解代谢导致肌肉质量减少^[29]。因此, 长期的 UPRmt 被认为是有害的^[30]。

2 线粒体自噬的生物学机制

正常细胞中的线粒体面临多种类型的挑战, 并通过强大的 MQC 缓解这些应激。MQC 功能障碍或致命性应激最终导致线粒体严重受损, 因此, 必须在这些受损线粒体威胁到细胞存活之前将其清除。线粒体自噬是一种选择性降解的自噬, 负责识别和降解这些严重受损的线粒体^[31]。根据不同的组织、能量状况、应激源和信号环境, 已经确定了介导线粒体自噬的多种信号通路和途径^[32]。在哺乳动物中, 由 PINK1/Parkin 介导的泛素依赖性线粒体自噬、FUNDC1 和 NIX 受体介导的线粒体自噬以及微自噬和线粒体衍生囊泡 (MDV) 是迄今为止主要的线粒体自噬途径^[33-34]。

3 UPRmt与线粒体自噬协同互作的机制

尽管没有直接证据, 大多数研究认为 UPRmt 首先修复那些轻度受损的线粒体, 随后线粒体自噬选择性地清除 UPRmt 无法挽救的线粒体^[35]。然而, 在不同物种中, 同一应激源在同一组织中同时激活 UPRmt 和线粒体自噬, 似乎提示 UPRmt 和线粒体自噬存在一种协同互作方式。CHOP 作为 UPRmt 的转录因子, 能独立介导 UPRmt 基因的转录^[36]。在扩张型心肌病患者的心脏组织中, CHOP 和 Parkin 的蛋白表达协同上调^[37]。突变型鸟氨酸转羧甲酰酶 (mutant ornithine transcarbamylase, Δ OTC) 是线粒体基质中的未折叠蛋白, 在 HeLa 细胞中, 过表达 Δ OTC 在不影响膜电位的前提下同时诱导 CHOP 表

达以及 Parkin 与泛素、Optineurin 和 LC3 共定位增加^[38-39]。类似地, 在骨骼肌中, 过表达 Δ OTC 诱导 LC3-II/LC3-I 比值升高, 同时导致线粒体功能障碍、肌肉质量减少和虚弱^[40]。上述研究提示, 病理应激或线粒体基质的未折叠蛋白积累导致的 UPRmt 和线粒体自噬协同激活, 可能参与骨骼肌线粒体功能障碍和肌萎缩。其他研究也显示 UPRmt 和线粒体自噬存在相互补偿的作用方式。在小鼠白色脂肪中, 敲除 HSP60 可增加 LC3-I 和 LC3-II 的表达以及自噬体的产生和活性^[41]。LONP1 失活可诱导果蝇 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬^[42]。在 SH-SY5Y 细胞中, 敲低 mtHSP70 诱导 LC3 和线粒体-溶酶体共定位增加^[43]。同样, 线粒体自噬诱导剂可促进 Parkin 的线粒体定位从而降低人多巴胺能神经元和成肌细胞中线粒体 Δ OTC 的水平^[44]。这些表明, UPRmt 功能障碍可激活线粒体自噬, 以降低线粒体未折叠蛋白压力。同样, 线虫 pink-1 (哺乳动物 PINK1 同源物) 突变可诱导 ATFS-1 (哺乳动物 ATF5 同源物) 依赖的 UPRmt 激活^[45], 表明线粒体自噬障碍也会激活 UPRmt。在缺氧/复氧模型中, 沉默 FUNDC1 可下调小鼠心肌中 mtDNAJ、HSP10、CLPP 和 LONP1 的表达, 而过表达 FUNDC1 则相反^[37], 这提示 FUNDC1 可能在缺氧应激下介导 UPRmt 和线粒体自噬的协同互作。总之, 两个系统在应激下协同激活, 在一方损伤时另一方提供补偿, 二者共同减少应激损伤。

4 衰老骨骼肌中UPRmt和线粒体自噬的变化

4.1 衰老骨骼肌中UPRmt的降低

随着年龄的增长, UPRmt 的激活被抑制^[46]。平均年龄 71.5 岁的肌萎缩老年人与 20 岁的年轻人相比, 骨骼肌 CHOP、HSPd1 (HSP60)、HSPe1 (HSP10)、CLPP 和 UBL5 的基因转录水平下调^[8]。在 27 月龄衰老小鼠骨骼肌中, LONP1 的转录水平降低 75%^[47], 其表达量及活性也在 27 月龄雌性衰老小鼠的肌肉中降低, 这种现象在长期暴露于氧化应激的小鼠中更为严重^[47]。去神经支配的小鼠骨骼肌 LONP1 的表达量下调, 并与线粒体数量的减少相关^[48]。这种去神经支配的骨骼肌导致的萎缩也与线粒体活性氧的产生增加有关^[49]。以上提示, 衰老骨骼肌中 UPRmt 的降低可能由氧化应激诱导, 并与骨骼肌萎缩有关。

4.2 衰老骨骼肌中线粒体自噬的降低

尽管在年轻和衰老的人类骨骼肌中没有观察到 Parkin 表达的差异^[50-53], 但 Parkin 与线粒体电压依

赖性阴离子通道 (voltage-dependent anion-selective channel, VDAC) 蛋白的比率降低, 并伴随线粒体介导的凋亡信号和功能障碍线粒体增多。在 18 月龄衰老小鼠股四头肌中, Parkin 与 VDAC 的比率也呈现类似的降低^[50]。以上表明, 尽管 Parkin 的表达量不变, Parkin 介导的泛素依赖性线粒体自噬可能会随着年龄的增长而受损。也有研究报道 PINK1/Parkin 蛋白表达量降低。18 月龄小鼠相比 3 月龄小鼠, 骨骼肌中 Parkin 表达降低^[54]。类似地, 与 8 月龄成年大鼠相比, 24 月龄衰老大鼠腓肠肌中 Parkin 的表达也出现降低^[55]。相比 5 月龄小鼠, 27 月龄小鼠骨骼肌 PINK1 和 PGC-1 α 的表达均降低^[56]。衰老进程中的线粒体自噬受损可导致肌肉减少症^[9, 57]。例如, 慢性阻塞性肺病相关的肌肉减少症可归因于 Parkin 表达降低导致的线粒体自噬不足和线粒体 ROS 增加^[58]。以上提示, 衰老骨骼肌中 PINK1/Parkin 通路的表达和活性呈现增龄性减退, 导致线粒体自噬减少, 并伴有线粒体功能障碍, 从而加剧衰老性肌萎缩。

5 运动通过改善UPRmt和线粒体自噬维持衰老骨骼肌的线粒体稳态

运动是改善衰老肌肉质量或延缓肌肉减少症的有效干预方式。研究表明, 自噬有助于维持肌肉质量, 然而, 骨骼肌 ATG7、LC3II 和 LC3I 等自噬基因的表达随着增龄而下调^[59]。运动可以上调骨骼肌、肝脏和其他组织的自噬活性^[60], 这是由先天免疫受体 Toll 样受体 9 (TLR9) 招募 Beclin1 并促进内吞体-溶酶体 PI3K 复合物 (PI3KC3-C2) 组装从而激活 AMPK 诱导的^[61]。研究表明, 9 周的爬梯运动上调了衰老大鼠骨骼肌中 Beclin1、ATG7 和 p62 蛋白的表达^[62]。此外, 耐力运动也增加了衰老骨骼肌中的线粒体生物合成, 如线粒体数量和大小、mtDNA 拷贝以及线粒体呼吸链亚基^[63]。

5.1 运动和UPRmt

耐力运动可改善衰老骨骼肌的线粒体质量^[63]。UPRmt 作为 MQC 的第一反应, 也参与运动对衰老骨骼肌线粒体的改善。Hood 课题组使用慢性收缩活动 (CCA) 作为运动模型干预大鼠骨骼肌后, HSP60 和 mtHSP70 (GRP75) 表达升高^[64]。此外, 他们发现 CCA 刺激后, 在大鼠骨骼肌线粒体生物发生升高之前, CHOP、HSP60、mtHSP70 和 CLPP 的基因转录水平升高。类似地, 在小鼠肌肉细胞中也观察到 CCA 诱导的 ATF4、CHOP 和 mtHSP70 表达量的升

高^[65]。小鼠剧烈运动 60 min 可增加骨骼肌 HSP60、mtHSP70、CLPP 和 LONP1 的转录, 但 ATF5 敲除小鼠中 CLPP 和 PGC-1 α 的转录下降^[66], 表明 ATF5 可能介导急性运动中骨骼肌 UPRmt 和线粒体生物发生的激活。与此一致, 本课题组的研究也显示, 12 d 的耐力运动通过促进 c-Jun、HSP60、HTRA2 和 SOD2 的表达激活 UPRmt 的三条信号通路^[67]。由此推测, 运动可能通过骨骼肌 ATF5 介导 UPRmt 经典通路的激活, 随后调控 PGC-1 α 介导的线粒体生物合成。

尽管 24 月龄小鼠腓肠肌 UPRmt 受到衰老的影响, Yme1L1 和 CLPP 转录水平下降, 但 4 周有氧运动可促进 Yme1L1、HSP60 和 LONP1 的表达, 并伴随该骨骼中线粒体含量的一致增加^[68]。同样, 24 月龄小鼠对 4 周高强度间歇性运动反应良好, 骨骼肌中 Yme1L1 和 LONP1 的转录以及 LONP1 蛋白表达量升高, 伴随线粒体质量的改善, 包括 PGC-1 α 和柠檬酸合成酶表达的升高, 以及运动表现的改善, 包括握力、最大跑速和跑步距离的增加^[69]。本课题组一项未发表的研究表明, 3 个月的运动训练逆转了 19 月龄小鼠骨骼肌 HSP60 蛋白表达量的下降。这些表明, 运动可通过逆转衰老骨骼肌 UPRmt 来维持线粒体稳态和肌肉质量。

研究表明, 骨骼肌 FUNDC1^[70] 和 LONP1^[71] 的特

异性敲除都能通过成纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) 增加脂肪组织的代谢, 从而抵抗肥胖和改善全身代谢。分子机制研究发现, FUNDC1 与 LONP1 相互作用可促进 LONP1 的稳定性^[72]; 骨骼肌 LONP1 不稳定通过未知机制产生 FGF21, 推测可能是由 ATF4 介导的^[73]; 随后 FGF21 释放入血液循环, 在其他组织诱导 UPRmt 和代谢重塑^[71](图 1)。然而, LONP1 缺失也可激活自噬溶酶体介导的降解程序, 导致骨骼肌质量和力量降低^[40]。虽然 LONP1 在衰老骨骼肌中减少^[47], 但有氧运动可促进衰老小鼠骨骼肌中 LONP1 的表达^[74], 并伴随线粒体生物合成和运动表现的提高。因此, FUNDC1-LONP1 轴介导的 UPRmt 在组织间的对话 (cross-talk) 可能在骨骼肌质量的维持中发挥重要作用。

综上, 运动激活骨骼肌 UPRmt 的三条通路, 可能通过 ATF5 介导 UPRmt 经典通路, 并随后调控 PGC-1 α 介导的线粒体生物合成。虽然 UPRmt 随着年龄的增长而减少, 但运动可促进衰老骨骼肌 UPRmt 经典通路, 维持线粒体稳态并改善衰老性肌萎缩。但是, 目前运动调节 UPRmt 的分子机制尚未阐明。

5.2 运动和线粒体自噬

线粒体自噬是运动健康效应的关键机制, 一次

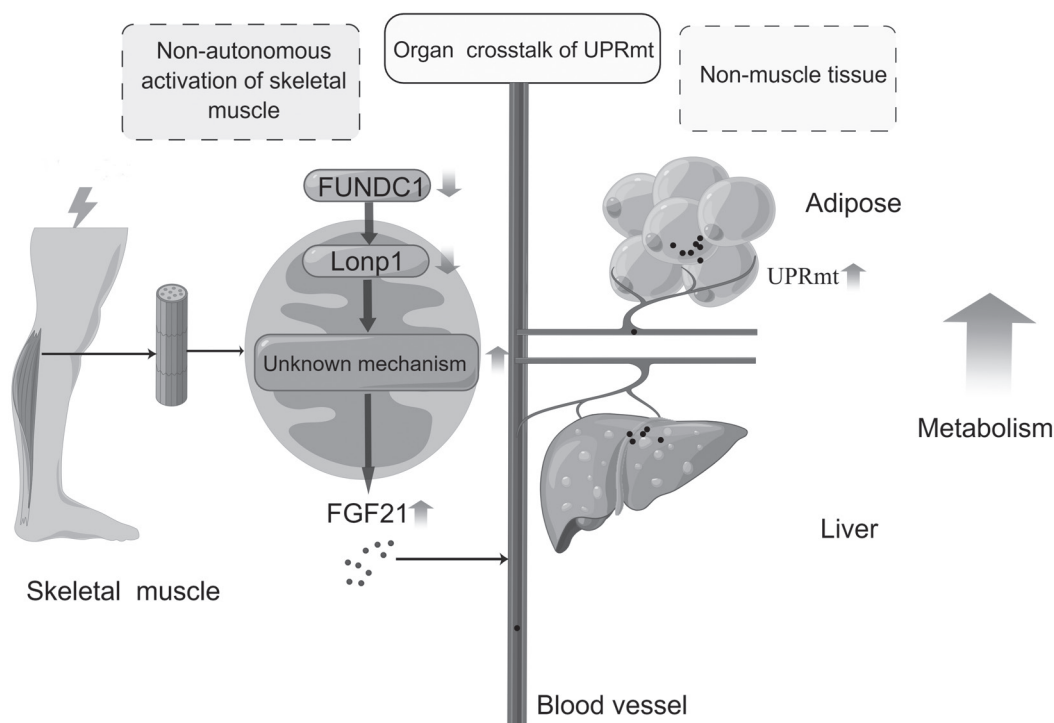


图1 FUNDC1-LONP1轴介导UPRmt在组织间的对话(注: Figdraw绘图)

性运动即能诱导骨骼肌线粒体自噬的激活^[75]。耐力运动训练后, 骨骼肌中 Parkin 的线粒体定位^[50]、BNIP3 和 NIX 的表达量^[68, 76]、LC3-II/LC3-I 比率^[60]和线粒体自噬流^[50, 77]均增加。研究人员利用 MitoTimer, 一种氧化还原敏感的线粒体靶向报告基因, 首次证明在单次运动后的恢复期间骨骼肌线粒体自噬被诱导^[78]。有意思的是, 6周自主转轮运动和慢性收缩活动分别降低了小鼠^[79]和大鼠^[80]的骨骼肌线粒体自噬流, 这是一种良性适应: 由于运动提高了线粒体质量, 导致线粒体自噬激活信号减弱, 这些信号可能需要更强烈的刺激才能被激活^[81]。在运动训练6周后, 相比野生小鼠, Parkin 基因敲除小鼠的骨骼肌线粒体自噬水平更低^[79], 线粒体含量虽增加但线粒体活性氧产生增多, 提示线粒体功能障碍。因此, 运动诱导的线粒体自噬升高可能很大程度上依赖 Parkin。

耐力运动提高线粒体自噬是缓解衰老功能衰退的有效手段。Drummond 等^[82]发现, 在老年女性骨骼肌中 Beclin1、NIX/BNIP3L 和 Parkin 等线粒体自噬标志物的表达与 6 min 步行距离呈正相关。此外, 耐力运动可上调衰老小鼠骨骼中线粒体自噬标志物 ATG7 和 Beclin1 的表达^[83]。研究表明, 终身运动可通过 PGC-1 α /p53 轴改善人类肌肉中随增龄降低的 LC3II 和 BNIP3 的表达^[84], 而 Parkin 过表达可增加线粒体清除率并缓解衰老骨骼肌的代谢降低和萎缩^[54]。然而, Carter 等^[80]观察到, 35~36 月龄衰老大鼠经过 9 d 的骨骼肌慢性收缩活动后, 虽然 BNIP3 和 NIX 表达增加, 但 Parkin 和 LC3-II/LC3-I 未见明显变化。类似研究也观察到, 18 月龄衰老小鼠骨骼肌中 Parkin 的线粒体定位和线粒体自噬流减少, 运动诱导的 Parkin 和线粒体自噬流的增加几乎完全消失^[50]。以上表明, 随着年龄的增长, 运动诱导的线粒体自噬存在低应答。此外, 在衰老骨骼肌中发现了溶酶体中脂褐质的积累, 这被认为是溶酶体活性降低的指标和线粒体自噬的限速步骤^[53]。因此, 溶酶体功能受损可能是高龄期线粒体自噬运动应答降低的原因。以上研究提示, 线粒体自噬通路相关因子的表达升高并不代表线粒体自噬的增加。

综上, 运动促进骨骼肌线粒体自噬在很大程度上依赖于 Parkin 的活性, 而且长期运动可诱导线粒体自噬的良性适应。虽然运动可改善衰老骨骼肌线粒体自噬, 但是高龄期线粒体自噬的运动低应答可能与溶酶体功能障碍有关。

6 活性氧作为信号分子调控运动中UPRmt和线粒体自噬的协同

氧化应激是机体内的氧化剂多于抗氧化剂而造成的失衡。基因突变、金属离子缺乏、药物抑制或衰老等导致细胞中产生活性氧, 如超氧化物、羟基自由基、过氧基和一氧化氮, 或它们的非自由基形式, 如过氧化氢、单线态氧、臭氧和过氧亚硝酸盐等。活性氧攻击细胞蛋白造成氧化损伤, 而抗氧化剂对抗活性氧使细胞内环境达到平衡状态。细胞和线粒体具有天然抗氧化防御系统, 包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)等抗氧化酶, 以及 GSH 还原酶(GR)、葡萄糖 6-磷酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶等抗氧化相关的辅酶等^[85]。运动可以显著增强抗氧化防御系统, 例如提高抗氧化酶含量和活性, 从而降低氧化损伤。然而, 运动骨骼肌产生的活性氧也可以是逆转衰老骨骼肌功能衰退的有益信号^[86]。虽然剧烈运动也可以诱导骨骼肌内的氧化损伤, 但在中等强度运动中活性氧的增加相当温和且短暂, 这种增加涉及氧化还原敏感信号效应, 而不是氧化损伤, 也被称为“低毒兴奋效应”(hormesis)。目前有几个证据支持这一观点, 即抗氧化剂会抑制运动对人类和动物的健康促进作用, 例如外源非特异性抗氧化剂的补充减少或消除了运动对骨骼肌线粒体生物合成、抗氧化和抗炎系统的上调^[87]。在本课题组未发表的研究中, 与未经训练的受试组相比, 2 个月的耐力运动使大鼠应对一次急性运动后骨骼肌 UPRmt 相关的 c-Jun、CHOP、HSP60、CLPP 和线粒体自噬相关的 PINK1、BNIP3 和 LC3II/I 协同升高, 并伴随活性氧和呼吸控制率的增加, 表明 UPRmt 和线粒体自噬可能被活性氧协同上调。尽管存在非线粒体来源的活性氧, 如 NADPH 氧化酶和黄嘌呤氧化酶, 但线粒体是运动过程中活性氧产生的主要细胞器^[88]。本课题组最近证实, 运动期间骨骼肌线粒体产生的活性氧激活了 UPRmt 的三条信号通路, 包括 c-Jun、HSP60、Htra2 和 SOD2^[67], 表明运动骨骼肌产生的线粒体活性氧可作为调节骨骼肌 UPRmt 的氧化还原信号。与此同时, 线粒体活性氧的短暂爆发性增加也会触发线粒体自噬^[89]。因此, 运动骨骼肌产生的线粒体活性氧可能是调节 UPRmt 和线粒体自噬协同作用的信号分子。

AMPK 是一种氧化还原敏感性激酶, 可通过细胞内 ATP 水平降低或运动中的活性氧升高被激活^[90]。

AMPK 活性似乎伴随大鼠^[91]和人类^[92]的衰老而降低。研究表明, 100~600 $\mu\text{mol/L}$ 的外源 H_2O_2 通过 ERK1/2 介导 AMPK 中 Thr172 残基的磷酸化, 从而激活 AMPK^[93]。此外, Dong 等^[92]证实, 在 H_2O_2 浓度较低 (0~0.1 mmol/L) 时, AMPK 可被谷氧还蛋白介导的 S-谷胱甘肽化激活; 相比之下, 在 H_2O_2 浓度较高 (1~5 mmol/L) 时, AMPK 可以通过 AMP 依赖的机制被激活; 值得注意的是, 他们还发现用高浓度 H_2O_2 长时间处理会导致 AMPK 蛋白和磷酸化的减少。小鼠在体研究支持了上述研究结果, 即 AMPK- α 亚基内 Cys130 和 Cys174 的氧化可以诱导 AMPK 的聚集, 从而阻断其被上游激酶磷酸化^[94]。以上研究结果表明, 活性氧可以双向调节 AMPK 活性。

SIRT6 是一个进化中高度保守的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD^+) 依赖性去乙酰酶家族。当骨骼肌运动时, NAD^+/NADH 增加, 进而激活 SIRT1 和 SIRT3^[95]。SIRT1 和 SIRT3 作为 AMPK 的主要下游因子^[96], 可以预防和对抗与年龄有关的疾病^[97]。耐力运动后, 啮齿动物和人类骨骼肌中 SIRT1 和 SIRT3 活性增加^[98-100]。然而, 骨骼肌 SIRT1^[101] 和 SIRT3^[102] 的表达似乎随着年龄的增长而降低, 而耐力训练可激活衰老骨骼肌中的 AMPK、SIRT1^[101] 和 SIRT3^[102]。

已有研究表明, 活性氧可间接调控 SIRT1 的活性。Nasrin 等^[103]在 C2C12 成肌细胞中发现, 外源性 H_2O_2 触发了 JNK1 与 SIRT1 的相互作用: JNK1 在 Ser27、Ser47 和 Thr530 残基上磷酸化 SIRT1, 这些磷酸化修饰增加了 SIRT1 的活性并诱导其转位到细胞核中促进基因转录。相反, 氧化应激可以通过诱导 microRNA 的表达来抑制 SIRT1 的转录。Baker 等^[104]报道外源性 H_2O_2 通过 PI3K α 诱导 miR-34a 的表达, 而 miR-34a 可以结合 SIRT1 mRNA 的 3'UTR 并抑制 SIRT1 表达。已有研究证实, miR-34a 在衰老骨骼肌中表达增加^[105]。以上研究结果揭示了 SIRT1 在衰老骨骼肌中减少的分子机制。因此, SIRT1 与 AMPK 类似, 也受到活性氧的双向调节。

SIRT1 可正向调节 UPRmt 经典通路。研究表明, 补充 NAD^+ 可增加呼吸链缺陷小鼠骨骼肌中 SIRT1 的活性, 并促进 HSP60、HSP70 和 CLPP 的表达^[106]。Mouchiroud 等^[107]在原代小鼠肝细胞中发现 SIRT1 过表达诱导 HSP60 和 CLPP 表达升高; 此外, SIRT1 过表达通过 UPRmt 延长了线虫寿命。需要注意的是, SIRT1 的一个非常重要的功能是去乙酰化和激活

PGC-1 α , 有研究表明 PGC-1 α -ATF5 轴激活的 UPRmt 部分介导心肌保护作用^[108]。这些发现表明, 适量活性氧介导的 AMPK/SIRT1 通路可能在运动调节 UPRmt 表达中起关键作用。

SIRT1 也可正向调节线粒体自噬。在人成纤维细胞中, SIRT1 的失活消除了烟酰胺诱导的线粒体自噬^[109]。SIRT1 还可通过去乙酰化激活 FOXO3a, 从而逆转骨细胞衰老相关的分泌表型^[110-111]。在衰老的肾脏中, SIRT1 通过去乙酰化 FOXO3 诱导 BNIP3 和 LC3 介导的线粒体自噬升高, 减轻老年缺氧相关的线粒体和肾脏损伤^[112]。此外, SIRT1 还参与了槲皮素诱导的 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬, 从而防止肾小管上皮细胞衰老^[113]。以上研究结果表明, SIRT1/FOXO3a 介导的线粒体自噬参与抗衰老。尿石素 A (UA) 可能通过上调骨骼肌中 NAD^+ 、SIRT1 和 ATP 的水平^[114], 介导 23~24 月龄小鼠骨骼肌和肠道细胞中的线粒体自噬, 从而提高小鼠的运动能力^[115]。在杜氏肌营养不良小鼠模型中, SIRT1 过表达可以通过抑制肌肉萎缩基因的表达来减少肌肉损伤^[116]。由此推测, SIRT1 可能通过介导线粒体自噬防止衰老性肌萎缩。

除了 SIRT1, 去乙酰化酶 SIRT3 也在 UPRmt 中发挥重要作用。在经历 CCA 后的 C2C12 肌管中, SIRT3、HSP70 和 HSP60 的表达升高^[65]。Lu 等^[117]证实, HSP10 是 SIRT3 的一种功能性底物, SIRT3 通过控制 HSP10 和 HSP60 之间的动态相互作用来调节线粒体蛋白质的折叠。相反, SIRT3 的缺失显著下调原代肝细胞中 HSP10、HSP60 和 CLPP 的表达^[118]。本课题组未发表的研究也表明, SIRT3 的过表达上调了 C2C12 细胞 c-Jun 和 CHOP 的表达。因此, 作为 AMPK 的下游分子, SIRT3 也可激活 UPRmt 经典通路。由此推测, 运动源性的活性氧可能通过 AMPK/SIRT1 或 SIRT3 激活骨骼肌的 UPRmt。

SIRT3 在线粒体自噬中的调节作用已被证实, 例如, SIRT3 通过 FOXO3 的去乙酰化激活线粒体自噬^[119], 而 FOXO3a 可上调骨骼肌 PINK1/Parkin、BNIP3、BNIP3L/NIX 和 LC3 依赖的线粒体自噬^[120]。研究表明, SIRT3 通过 FOXO3a/PINK1/Parkin 通路诱导的线粒体自噬减少高糖诱导的视网膜色素上皮细胞的凋亡^[121], 该通路介导的线粒体自噬还在小鼠糖尿病性心肌病中发挥心肌保护作用^[122]。此外, 心肌细胞敲低 SIRT3 通过促进 p53-Parkin 结合、阻断 Parkin 的线粒体转位来抑制 Parkin 介导的线粒体自噬并损害线粒体稳态^[123]。需要注意的是, 抗氧

化剂 NAC 消除了蛋白质毒性应激下 SIRT3 介导的线粒体自噬^[21]。因此, 活性氧可能在 SIRT3 介导的线粒体自噬中发挥重要作用, 推测运动源性的活性氧可能通过 AMPK/SIRT1 或 SIRT3 通路触发骨骼肌线粒体自噬。

SIRT1 和 SIRT3 也可介导抗氧化机制, 包括 UPRmt 的基质抗氧化通路 SIRT3/FOXO3a/SOD2。研究表明, 运动促进衰老大鼠白色腓肠肌中 SIRT1 和抗氧化酶 SOD2 的表达^[124]; SIRT1 过表达可诱导间充质干细胞 SOD2 表达升高^[111]; 同样, 运动促进自发性高血压大鼠心肌 SIRT3 和 SOD2 的表达^[125]; 而 SIRT3 也可去乙酰化和活化 SOD2^[126]。SIRT1 和 SIRT3 都能活化 FOXO3a, 使其移位到细胞核从而激活一系列抗氧化相关基因^[127]。敲低或过表达 FOXO3a 证实, FOXO3a 调控 SOD2 的表达^[128]。尽管 FOXO3a 的核转位在衰老骨骼肌中降低^[129], 但上述研究结果表明, 运动源性的活性氧可能通过 AMPK/SIRT3s/FOXO3a 介导线粒体 SOD2 的表达, 从而提高线粒体抗氧化能力。有趣的是, UPRmt 经典通路中 CHOP 缺陷引起的线粒体蛋白失衡可以通过慢性收缩活动诱导的 UPRmt 基质抗氧化通路和 (或) 膜间隙抗氧化通路的提高得到补偿^[65]。这与本课题组的研究结果一致^[67], 即 UPRmt 的基质抗氧化通路可以补偿 UPRmt 经典通路的缺陷, 从而维持线粒体稳态。

总之, 运动源性的活性氧可能通过 AMPK/SIRT3s 调节 UPRmt、线粒体自噬和线粒体抗氧化酶 SOD2 的协同激活, 并介导它们之间的相互补偿 (图 2)。

7 结论

UPRmt 和线粒体自噬是线粒体质量控制的两个重要系统, 分别负责修复和清除受损线粒体。在应激状态下, UPRmt 和线粒体自噬可以协同激活, 当一方受损时另一方发挥补偿作用, 共同减少应激诱导的线粒体功能障碍。骨骼肌中的 UPRmt 和线粒体自噬随着年龄的增长而减少, 导致线粒体稳态受损和衰老性肌萎缩。运动部分通过 ATF5 介导的 UPRmt 和 Parkin 介导的线粒体自噬维持衰老骨骼肌线粒体稳态并延缓衰老性肌萎缩。运动源性的活

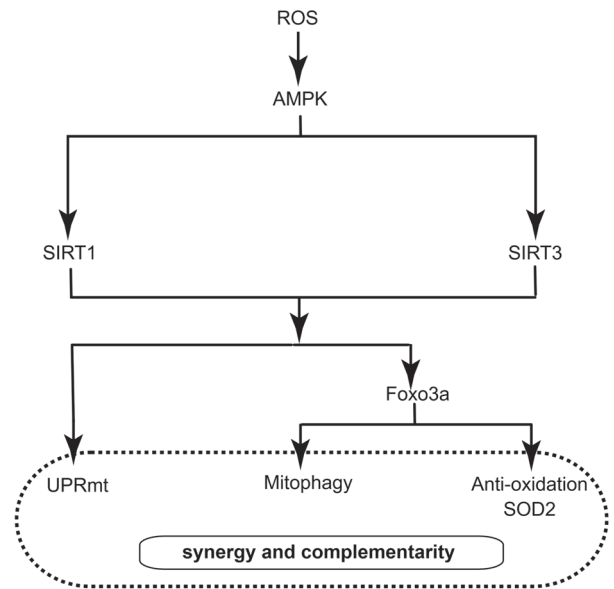


图2 运动源性的活性氧调节UPRmt与线粒体自噬的协同互动机制

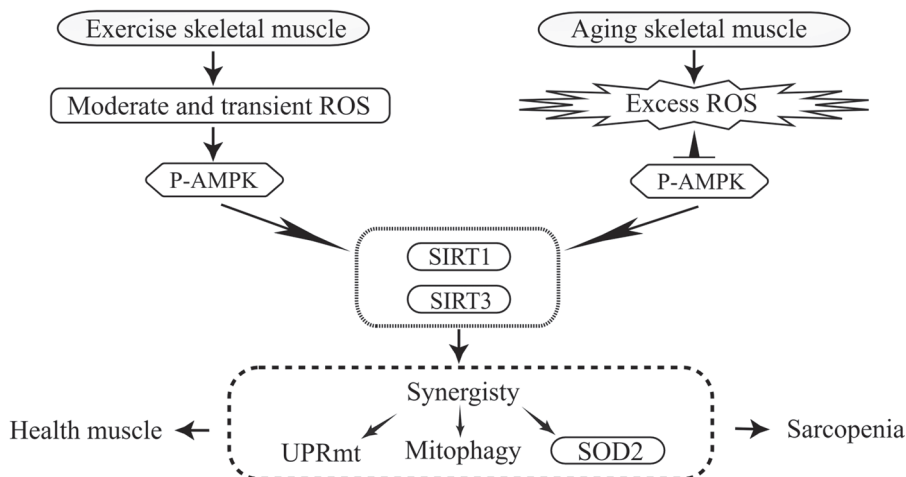


图3 运动调控衰老骨骼肌UPRmt和线粒体自噬的协同互动机制

性氧作为信号分子可能通过 AMPK/SIRT6 调节 UPR^{mt}、线粒体自噬和线粒体抗氧化酶 SOD2 的协同互动,维持衰老进程中的线粒体稳态和预防衰老性肌萎缩(图 3)。

[参 考 文 献]

- [1] Suomalainen A, Battersby BJ. Mitochondrial diseases: the contribution of organelle stress responses to pathology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19: 77-92
- [2] Smyrniak I. The mitochondrial unfolded protein response and its diverse roles in cellular stress. *Int J Biochem Cell Biol*, 2021, 133: 105934
- [3] Moehle EA, Shen K, Dillin A. Mitochondrial proteostasis in the context of cellular and organismal health and aging. *J Biol Chem*, 2019, 294: 5396-407
- [4] Roca-Portoles A, Tait SWG. Mitochondrial quality control: from molecule to organelle. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78: 3853-66
- [5] Baker BM, Haynes CM. Mitochondrial protein quality control during biogenesis and aging. *Trends Biochem Sci*, 2011, 36: 254-61
- [6] Angeli S, Foulger A, Chamoli M, et al. The mitochondrial permeability transition pore activates the mitochondrial unfolded protein response and promotes aging. *Elife*, 2021, 10: e63453
- [7] Marzetti E, Calvani R, Cesari M, et al. Mitochondrial dysfunction and sarcopenia of aging: from signaling pathways to clinical trials. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45: 2288-301
- [8] Migliavacca E, Tay SKH, Patel HP, et al. Mitochondrial oxidative capacity and NAD⁺ biosynthesis are reduced in human sarcopenia across ethnicities. *Nat Commun*, 2019, 10: 5808
- [9] Leduc-Gaudet JP, Hussain SNA, Barreiro E, et al. Mitochondrial dynamics and mitophagy in skeletal muscle health and aging. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 8179
- [10] Urbina-Varela R, Castillo N, Videla LA, et al. Impact of mitophagy and mitochondrial unfolded protein response as new adaptive mechanisms underlying old pathologies: sarcopenia and non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 7704
- [11] Ruan L, Zhou C, Jin E, et al. Cytosolic proteostasis through importing of misfolded proteins into mitochondria. *Nature*, 2017, 543: 443-6
- [12] Merkwirth C, Jovaisaite V, Durieux J, et al. Two conserved histone demethylases regulate mitochondrial stress-induced longevity. *Cell*, 2016, 165: 1209-23
- [13] Nargund AM, Fiorese CJ, Pellegrino MW, et al. Mitochondrial and nuclear accumulation of the transcription factor ATF5 promotes OXPHOS recovery during the UPR^{mt}. *Mol Cell*, 2015, 58: 123-33
- [14] Liu S, Liu S, Jiang H. Multifaceted roles of mitochondrial stress responses under ETC dysfunction - repair, destruction and pathogenesis. *FEBS J*, 2022, 289: 6994-7013
- [15] Gu LF, Chen JQ, Lin QY, et al. Roles of mitochondrial unfolded protein response in mammalian stem cells. *World J Stem Cells*, 2021, 13: 737-52
- [16] Münch C, Harper JW. Mitochondrial unfolded protein response controls matrix pre-RNA processing and translation. *Nature*, 2016, 534: 710-3
- [17] Katiyar A, Fujimoto M, Tan K, et al. HSF1 is required for induction of mitochondrial chaperones during the mitochondrial unfolded protein response. *FEBS Open Bio*, 2020, 10: 1135-48
- [18] Horibe T, Hoogenraad NJ. The chop gene contains an element for the positive regulation of the mitochondrial unfolded protein response. *PLoS One*, 2007, 2: e835
- [19] Fusakio ME, Willy JA, Wang Y, et al. Transcription factor ATF4 directs basal and stress-induced gene expression in the unfolded protein response and cholesterol metabolism in the liver. *Mol Biol Cell*, 2016, 27: 1536-51
- [20] Fiorese CJ, Schulz AM, Lin YF, et al. The transcription factor ATF5 mediates a mammalian mitochondrial UPR. *Curr Biol*, 2016, 26: 2037-43
- [21] Papa L, Germain D. SirT3 regulates the mitochondrial unfolded protein response. *Mol Cell Biol*, 2014, 34: 699-710
- [22] Papa L, Germain D. Estrogen receptor mediates a distinct mitochondrial unfolded protein response. *J Cell Sci*, 2011, 124: 1396-402
- [23] Jenkins EC, Chattopadhyay M, Germain D. Folding mitochondrial-mediated cytosolic proteostasis into the mitochondrial unfolded protein response. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 715923
- [24] Queliconi BB, Kojima W, Kimura M, et al. Unfolding is the driving force for mitochondrial import and degradation of the Parkinson's disease-related protein DJ-1. *J Cell Sci*, 2021, 134: jcs258653
- [25] Bar-Ziv R, Bolas T, Dillin A. Systemic effects of mitochondrial stress. *EMBO Rep*, 2020, 21: e50094
- [26] Li X, Li J, Zhu D, et al. Protein disulfide isomerase PDI-6 regulates Wnt secretion to coordinate inter-tissue UPR^{mt} activation and lifespan extension in *C. elegans*. *Cell Rep*, 2022, 39: 110931
- [27] Tian Y, Garcia G, Bian Q, et al. Mitochondrial stress induces chromatin reorganization to promote longevity and UPR^{mt}. *Cell*, 2016, 165: 1197-208
- [28] Quirós PM, Prado MA, Zamboni N, et al. Multi-omics analysis identifies ATF4 as a key regulator of the mitochondrial stress response in mammals. *J Cell Biol*, 2017, 216: 2027-45
- [29] Brearley-Sholto MC, Loczenski-Brown DM, Jones S, et al. Effect of AAV-mediated overexpression of ATF5 and downstream targets of an integrated stress response in murine skeletal muscle. *Sci Rep*, 2021, 11: 19796
- [30] Bennett CF, Vander Wende H, Simko M, et al. Activation of the mitochondrial unfolded protein response does not predict longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun*, 2014, 5: 3483
- [31] Choubey V, Zeb A, Kaasik A. Molecular mechanisms and regulation of mammalian mitophagy. *Cells*, 2021, 11: 38
- [32] Montava-Garriga L, Ganley IG. Outstanding questions in

- mitophagy: what we do and do not know. *J Mol Biol*, 2020, 432: 206-30
- [33] Onishi M, Yamano K, Sato M, et al. Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy. *EMBO J*, 2021, 40: e104705
- [34] Palikaras K, Lionaki E, Tavernarakis N. Mechanisms of mitophagy in cellular homeostasis, physiology and pathology. *Nat Cell Biol*, 2018, 20: 1013-22
- [35] Haynes CM, Fiorese CJ, Lin YF. Evaluating and responding to mitochondrial dysfunction: the mitochondrial unfolded-protein response and beyond. *Trends Cell Biol*, 2013, 23: 311-8
- [36] Oliveira AN, Hood DA. Effect of Tim23 knockdown *in vivo* on mitochondrial protein import and retrograde signaling to the UPR(mt) in muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 315: C516-26
- [37] Ji H, Wang J, Muid D, et al. FUNDC1 activates the mitochondrial unfolded protein response to preserve mitochondrial quality control in cardiac ischemia/reperfusion injury. *Cell Signal*, 2022, 92: 110249
- [38] Jin SM, Youle RJ. The accumulation of misfolded proteins in the mitochondrial matrix is sensed by PINK1 to induce PARK2/Parkin-mediated mitophagy of polarized mitochondria. *Autophagy*, 2013, 9: 1750-7
- [39] Burman JL, Pickles S, Wang C, et al. Mitochondrial fission facilitates the selective mitophagy of protein aggregates. *J Cell Biol*, 2017, 216: 3231-47
- [40] Xu Z, Fu T, Guo Q, et al. Disuse-associated loss of the protease LONP1 in muscle impairs mitochondrial function and causes reduced skeletal muscle mass and strength. *Nat Commun*, 2022, 13: 894
- [41] Hauffe R, Rath M, Schell M, et al. HSP60 reduction protects against diet-induced obesity by modulating energy metabolism in adipose tissue. *Mol Metab*, 2021, 53: 101276
- [42] Thomas RE, Andrews LA, Burman JL, et al. PINK1-Parkin pathway activity is regulated by degradation of PINK1 in the mitochondrial matrix. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004279
- [43] Burbulla LF, Fitzgerald JC, Stegen K, et al. Mitochondrial proteolytic stress induced by loss of mortalin function is rescued by Parkin and PINK1. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1180
- [44] Shiba-Fukushima K, Inoshita T, Sano O, et al. A cell-based high-throughput screening identified two compounds that enhance PINK1-Parkin signaling. *iScience*, 2020, 23: 101048
- [45] Cooper JF, Machiela E, Dues DJ, et al. Activation of the mitochondrial unfolded protein response promotes longevity and dopamine neuron survival in Parkinson's disease models. *Sci Rep*, 2017, 7: 16441
- [46] Song J, Zhang Z, Dong Z, et al. MicroRNA-122-5p aggravates angiotensin II-mediated myocardial fibrosis and dysfunction in hypertensive rats by regulating the elabela/apelin-APJ and ACE2-GDF15-porimin signaling. *J Cardiovasc Transl Res*, 2022, 15: 535-47
- [47] Bota DA, Van Remmen H, Davies KJ. Modulation of Lon protease activity and aconitase turnover during aging and oxidative stress. *FEBS Lett*, 2002, 532: 103-6
- [48] Wagatsuma A, Kotake N, Mabuchi K, et al. Expression of nuclear-encoded genes involved in mitochondrial biogenesis and dynamics in experimentally denervated muscle. *J Physiol Biochem*, 2011, 67: 359-70
- [49] Muller FL, Song W, Jang YC, et al. Denervation-induced skeletal muscle atrophy is associated with increased mitochondrial ROS production. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 293: R1159-68
- [50] Chen CCW, Erlich AT, Crilly MJ, et al. Parkin is required for exercise-induced mitophagy in muscle: impact of aging. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2018, 315: E404-15
- [51] Zampieri S, Pietrangelo L, Loeffler S, et al. Lifelong physical exercise delays age-associated skeletal muscle decline. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2015, 70: 163-73
- [52] Ko F, Abadir P, Marx R, et al. Impaired mitochondrial degradation by autophagy in the skeletal muscle of the aged female interleukin 10 null mouse. *Exp Gerontol*, 2016, 73: 23-7
- [53] O'Leary MF, Vainshtein A, Iqbal S, et al. Adaptive plasticity of autophagic proteins to denervation in aging skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 304: C422-30
- [54] Leduc-Gaudet JP, Reynaud O, Hussain SN, et al. Parkin overexpression protects from ageing-related loss of muscle mass and strength. *J Physiol*, 2019, 597: 1975-91
- [55] Russ DW, Wills AM, Boyd IM, et al. Weakness, SR function and stress in gastrocnemius muscles of aged male rats. *Exp Gerontol*, 2014, 50: 40-4
- [56] Zhou J, Chong SY, Lim A, et al. Changes in macroautophagy, chaperone-mediated autophagy, and mitochondrial metabolism in murine skeletal and cardiac muscle during aging. *Aging (Albany NY)*, 2017, 9: 583-99
- [57] Mito T, Vincent AE, Faitg J, et al. Mosaic dysfunction of mitophagy in mitochondrial muscle disease. *Cell Metab*, 2022, 34: 197-208.e5
- [58] Rysrø CK, Thaning P, Siebenmann C, et al. Effect of endurance versus resistance training on local muscle and systemic inflammation and oxidative stress in COPD. *Scand J Med Sci Sports*, 2018, 28: 2339-48
- [59] Carnio S, LoVerso F, Baraibar MA, et al. Autophagy impairment in muscle induces neuromuscular junction degeneration and precocious aging. *Cell Rep*, 2014, 8: 1509-21
- [60] He C, Bassik MC, Moresi V, et al. Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis. *Nature*, 2012, 481: 511-5
- [61] Liu Y, Nguyen PT, Wang X, et al. TLR9 and beclin 1 crosstalk regulates muscle AMPK activation in exercise. *Nature*, 2020, 578: 605-9
- [62] Mizushima N, Klionsky DJ. Protein turnover via autophagy: implications for metabolism. *Annu Rev Nutr*, 2007, 27: 19-40
- [63] Koltai E, Hart N, Taylor AW, et al. Age-associated declines in mitochondrial biogenesis and protein quality

- control factors are minimized by exercise training. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2012, 303: R127-34
- [64] Ornatsky OI, Connor MK, Hood DA. Expression of stress proteins and mitochondrial chaperonins in chronically stimulated skeletal muscle. *Biochem J*, 1995, 311: 119-23
- [65] Mesbah Moosavi ZS, Hood DA. The unfolded protein response in relation to mitochondrial biogenesis in skeletal muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2017, 312: C583-94
- [66] Slavin MB. The role of ATF5 in mitochondrial maintenance, biogenesis and UPRmt signaling following acute exercise in skeletal muscle[D]. Toronto: York university, 2021
- [67] Wang Z, Bo H, Song Y, et al. Mitochondrial ROS produced by skeletal muscle mitochondria promote the decisive signal for UPRmt activation. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 7436577
- [68] Vainshtein A, Tryon LD, Pauly M, et al. Role of PGC-1 α during acute exercise-induced autophagy and mitophagy in skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 308: C710-9
- [69] Cordeiro AV, Peruca GF, Braga RR, et al. High-intensity exercise training induces mitonuclear imbalance and activates the mitochondrial unfolded protein response in the skeletal muscle of aged mice. *Geroscience*, 2021, 43: 1513-8
- [70] Fu T, Xu Z, Liu L, et al. Mitophagy directs muscle-adipose crosstalk to alleviate dietary obesity. *Cell Rep*, 2018, 23: 1357-72
- [71] Guo Q, Xu Z, Zhou D, et al. Mitochondrial proteostasis stress in muscle drives a long-range protective response to alleviate dietary obesity independently of ATF4. *Sci Adv*, 2022, 8: eabo0340
- [72] Li J, Agarwal E, Bertolini I, et al. The mitophagy effector FUNDC1 controls mitochondrial reprogramming and cellular plasticity in cancer cells. *Sci Signal*, 2020, 13: eaaz8240
- [73] Kim KH, Jeong YT, Oh H, et al. Autophagy deficiency leads to protection from obesity and insulin resistance by inducing Fgf21 as a mitokine. *Nat Med*, 2013, 19: 83-92
- [74] Cordeiro AV, Bricola RS, Braga RR, et al. Aerobic exercise training induces the mitonuclear imbalance and UPRmt in the skeletal muscle of aged mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2020, 75: 2258-61
- [75] Zhang Y, Oliveira AN, Hood DA. The intersection of exercise and aging on mitochondrial protein quality control. *Exp Gerontol*, 2020, 131: 110824
- [76] Brandt N, Gunnarsson TP, Bangsbo J, et al. Exercise and exercise training-induced increase in autophagy markers in human skeletal muscle. *Physiol Rep*, 2018, 6: e13651
- [77] Vainshtein A, Desjardins EM, Armani A, et al. PGC-1 α modulates denervation-induced mitophagy in skeletal muscle. *Skelet Muscle*, 2015, 5: 9
- [78] Laker RC, Drake JC, Wilson RJ, et al. AMPK phosphorylation of ULK1 is required for targeting of mitochondria to lysosomes in exercise-induced mitophagy. *Nat Commun*, 2017, 8: 1-13
- [79] Chen CCW, Erlich AT, Hood DA. Role of Parkin and endurance training on mitochondrial turnover in skeletal muscle. *Skelet Muscle*, 2018, 8: 10
- [80] Carter HN, Kim Y, Erlich AT, et al. Autophagy and mitophagy flux in young and aged skeletal muscle following chronic contractile activity. *J Physiol*, 2018, 596: 3567-84
- [81] Ljubcic V, Hood DA. Specific attenuation of protein kinase phosphorylation in muscle with a high mitochondrial content. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 297: E749-58
- [82] Drummond MJ, Addison O, Bruncker L, et al. Downregulation of E3 ubiquitin ligases and mitophagy-related genes in skeletal muscle of physically inactive, frail older women: a cross-sectional comparison. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2014, 69: 1040-8
- [83] Kim YA, Kim YS, Oh SL, et al. Autophagic response to exercise training in skeletal muscle with age. *J Physiol Biochem*, 2013, 69: 697-705
- [84] Dethlefsen MM, Halling JF, Møller HD, et al. Regulation of apoptosis and autophagy in mouse and human skeletal muscle with aging and lifelong exercise training. *Exp Gerontol*, 2018, 111: 141-53
- [85] Ji LL, Yeo D. Oxidative stress: an evolving definition. *Fac Rev*, 2021, 10: 13
- [86] Li J, Wang Z, Li C, et al. Impact of exercise and aging on mitochondrial homeostasis in skeletal muscle: roles of ROS and epigenetics. *Cells*, 2022, 11: 2086
- [87] Kang C, O'Moore KM, Dickman JR, et al. Exercise activation of muscle peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α signaling is redox sensitive. *Free Radic Biol Med*, 2009, 47: 1394-400
- [88] Goncalves RL, Quinlan CL, Perevoshchikova IV, et al. Sites of superoxide and hydrogen peroxide production by muscle mitochondria assessed *ex vivo* under conditions mimicking rest and exercise. *J Biol Chem*, 2015, 290: 209-27
- [89] Wang Y, Nartiss Y, Steipe B, et al. ROS-induced mitochondrial depolarization initiates PARK2/PARKIN-dependent mitochondrial degradation by autophagy. *Autophagy*, 2012, 8: 1462-76
- [90] Bouviere J, Fortunato RS, Dupuy C, et al. Exercise-stimulated ROS sensitive signaling pathways in skeletal muscle. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10: 537
- [91] Zmijewski JW, Banerjee S, Bae H, et al. Exposure to hydrogen peroxide induces oxidation and activation of AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem*, 2010, 285: 33154-64
- [92] Dong K, Wu M, Liu X, et al. Glutaredoxins concomitant with optimal ROS activate AMPK through S-glutathionylation to improve glucose metabolism in type 2 diabetes. *Free Radic Biol Med*, 2016, 101: 334-47
- [93] Choi SL, Kim SJ, Lee KT, et al. The regulation of AMP-activated protein kinase by H₂O₂. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 287: 92-7
- [94] Shao D, Oka S, Liu T, et al. A redox-dependent mechanism for regulation of AMPK activation by Thioredoxin1 during energy starvation. *Cell Metab*, 2014, 19: 232-45

- [95] White AT, Schenk S. NAD⁺/NADH and skeletal muscle mitochondrial adaptations to exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 303: E308-21
- [96] Guo Z, Tuo H, Tang N, et al. Neuraminidase 1 deficiency attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, fibrosis, inflammatory via AMPK-SIRT3 pathway in diabetic cardiomyopathy mice. *Int J Biol Sci*, 2022, 18: 826-40
- [97] Pacifici F, Di Cola D, Pastore D, et al. Proposed tandem effect of physical activity and Sirtuin 1 and 3 activation in regulating glucose homeostasis. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 4748
- [98] Koltai E, Szabo Z, Atalay M, et al. Exercise alters SIRT1, SIRT6, NAD and NAMPT levels in skeletal muscle of aged rats. *Mech Ageing Dev*, 2010, 131: 21-8
- [99] Gurd BJ, Perry CG, Heigenhauser GJ, et al. High-intensity interval training increases SIRT1 activity in human skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2010, 35: 350-7
- [100] Suwa M, Nakano H, Radak Z, et al. Endurance exercise increases the SIRT1 and peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α protein expressions in rat skeletal muscle. *Metabolism*, 2008, 57: 986-98
- [101] Yu Y, Zhao Y, Teng F, et al. Berberine improves cognitive deficiency and muscular dysfunction via activation of the AMPK/SIRT1/PGC-1 α pathway in skeletal muscle from naturally aging rats. *J Nutr Health Aging*, 2018, 22: 710-7
- [102] Koltai E, Bori Z, Osvath P, et al. Master athletes have higher miR-7, SIRT3 and SOD2 expression in skeletal muscle than age-matched sedentary controls. *Redox Biol*, 2018, 19: 46-51
- [103] Nasrin N, Kaushik VK, Fortier E, et al. JNK1 phosphorylates SIRT1 and promotes its enzymatic activity. *PLoS One*, 2009, 4: e8414
- [104] Baker JR, Vuppusetty C, Colley T, et al. Oxidative stress dependent microRNA-34a activation via PI3K α reduces the expression of sirtuin-1 and sirtuin-6 in epithelial cells. *Sci Rep*, 2016, 6: 35871
- [105] Rippo MR, Olivieri F, Monsurrò V, et al. MitomiRs in human inflamm-aging: a hypothesis involving miR-181a, miR-34a and miR-146a. *Exp Gerontol*, 2014, 56: 154-63
- [106] Khan NA, Auranen M, Paetau I, et al. Effective treatment of mitochondrial myopathy by nicotinamide riboside, a vitamin B3. *EMBO Mol Med*, 2014, 6: 721-31
- [107] Mouchiroud L, Houtkooper RH, Moullan N, et al. The NAD⁺/Sirtuin pathway modulates longevity through activation of mitochondrial UPR and FOXO signaling. *Cell*, 2013, 154: 430-41
- [108] Zhang B, Tan Y, Zhang Z, et al. Novel PGC-1 α /ATF5 axis partly activates UPR(mt) and mediates cardioprotective role of tetrahydrocurcumin in pathological cardiac hypertrophy. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 9187065
- [109] Song SB, Jang SY, Kang HT, et al. Modulation of mitochondrial membrane potential and ROS generation by nicotinamide in a manner independent of SIRT1 and mitophagy. *Mol Cells*, 2017, 40: 503-14
- [110] Olmos Y, Sánchez-Gómez FJ, Wild B, et al. Sirt1 regulation of antioxidant genes is dependent on the formation of a FoxO3a/PGC-1 α complex. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19: 1507-21
- [111] Chen H, Hu X, Yang R, et al. SIRT1/FOXO3a axis plays an important role in the prevention of mandibular bone loss induced by 1,25(OH)₂D deficiency. *Int J Biol Sci*, 2020, 16: 2712-26
- [112] Kume S, Uzu T, Horiike K, et al. Calorie restriction enhances cell adaptation to hypoxia through Sirt1-dependent mitochondrial autophagy in mouse aged kidney. *J Clin Invest*, 2010, 120: 1043-55
- [113] Liu T, Yang Q, Zhang X, et al. Quercetin alleviates kidney fibrosis by reducing renal tubular epithelial cell senescence through the SIRT1/PINK1/mitophagy axis. *Life Sci*, 2020, 257: 118116
- [114] Ghosh N, Das A, Biswas N, et al. Urolithin A augments angiogenic pathways in skeletal muscle by bolstering NAD⁺ and SIRT1. *Sci Rep*, 2020, 10: 20184
- [115] Ryu D, Mouchiroud L, Andreux PA, et al. Urolithin A induces mitophagy and prolongs lifespan in *C. elegans* and increases muscle function in rodents. *Nat Med*, 2016, 22: 879-88
- [116] Chalkiadaki A, Igarashi M, Nasamu AS, et al. Muscle-specific SIRT1 gain-of-function increases slow-twitch fibers and ameliorates pathophysiology in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004490
- [117] Lu Z, Chen Y, Aponte AM, et al. Prolonged fasting identifies heat shock protein 10 as a Sirtuin 3 substrate: elucidating a new mechanism linking mitochondrial protein acetylation to fatty acid oxidation enzyme folding and function. *J Biol Chem*, 2015, 290: 2466-76
- [118] Gariani K, Menzies KJ, Ryu D, et al. Eliciting the mitochondrial unfolded protein response by nicotinamide adenine dinucleotide repletion reverses fatty liver disease in mice. *Hepatology*, 2016, 63: 1190-204
- [119] De Gaetano A, Gibellini L, Zanini G, et al. Mitophagy and oxidative stress: the role of aging. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10: 794
- [120] Bo H, Kang W, Jiang N, et al. Exercise-induced neuroprotection of hippocampus in APP/PS1 transgenic mice via upregulation of mitochondrial 8-oxoguanine DNA glycosylase. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 834502
- [121] Huang L, Yao T, Chen J, et al. Effect of Sirt3 on retinal pigment epithelial cells in high glucose through Foxo3a/PINK1-Parkin pathway mediated mitophagy. *Exp Eye Res*, 2022, 218: 109015
- [122] Yu W, Gao B, Li N, et al. Sirt3 deficiency exacerbates diabetic cardiac dysfunction: role of Foxo3A-Parkin-mediated mitophagy. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863: 1973-83
- [123] Li Y, Ma Y, Song L, et al. SIRT3 deficiency exacerbates p53/Parkin-mediated mitophagy inhibition and promotes mitochondrial dysfunction: implication for aged hearts. *Int J Mol Med*, 2018, 41: 3517-26
- [124] Li FH, Yu HT, Xiao L, et al. Response of BAX, Bcl-2 proteins, and SIRT1/PGC-1 α mRNA expression to 8-week treadmill running in the aging rat skeletal muscle. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 923: 283-9

- [125] Mi C, Qin X, Hou Z, et al. Moderate-intensity exercise allows enhanced protection against oxidative stress-induced cardiac dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *Braz J Med Biol Res*, 2019, 52: e8009
- [126] Chen Y, Zhang J, Lin Y, et al. Tumour suppressor SIRT3 deacetylates and activates manganese superoxide dismutase to scavenge ROS. *EMBO Rep*, 2011, 12: 534-41
- [127] Jacobs KM, Pennington JD, Bisht KS, et al. SIRT3 interacts with the daf-16 homolog FOXO3a in the mitochondria, as well as increases FOXO3a dependent gene expression. *Int J Biol Sci*, 2008, 4: 291-9
- [128] Xie Y, Gao Y, Gao R, et al. The proteasome activator REG γ accelerates cardiac hypertrophy by declining PP2A α -SOD2 pathway. *Cell Death Differ*, 2020, 27: 2952-72
- [129] Léger B, Derave W, De Bock K, et al. Human sarcopenia reveals an increase in SOCS-3 and myostatin and a reduced efficiency of Akt phosphorylation. *Rejuvenation Res*, 2008, 11: 163-75b