

线粒体功能对细胞衰老的影响及中医药与艾灸延缓衰老的研究进展

王慧¹, 陈丽梅^{2*}, 单思¹, 张高传¹, 温晓梨¹, 屠卓婧¹, 刘红宁^{1*}

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004;

2. 江西中医药大学附属医院, 南昌 330006)

[摘要] 自古以来,延缓衰老、健康长寿是人们的普遍愿望。如今中国将人民健康放在优先发展的战略地位。如何维持健康的生命,减缓人体的衰老是值得关注的问题。人体衰老从微观层面上可表现为细胞衰老,细胞增殖与分化能力和生理功能逐渐发生衰退的变化过程即细胞衰老,细胞衰老是一种正常的生理功能,负责清除受损细胞,是组织损伤或急性应激后的再生和恢复。衰老是一种不可抗拒的自然规律,衰老不可避免,但延缓衰老是可能的。能量代谢是细胞功能的重要基础,是细胞利用糖、脂肪等营养物质产生三磷酸腺苷(ATP)的过程。线粒体通常被认为是细胞的发电站,也是糖、脂肪和氨基酸最终被氧化释放能量的地方。线粒体功能会随着年龄的增长而下降,线粒体动力学、活性氧含量、自噬、代谢物的改变会引起电子传递链、氧化磷酸化等功能失调,诱发线粒体功能失调。线粒体功能障碍是许多衰老相关疾病如神经退行性疾病、阿尔茨海默病、动脉粥样硬化等的内在发病原因之一。不良反应小且成分丰富的中药和安全有效的保健灸法越来越多的应用到延缓衰老领域中,这篇综述描述了线粒体功能对细胞衰老的影响,并就中医药及艾灸通过影响线粒体功能来延缓衰老这一机制对近年来国内外文献进行检索、分析、归纳与总结,以期能为该领域的未来深层次研究提供新的见解。

[关键词] 线粒体; 细胞衰老; 中药; 艾灸

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)07-0254-14

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220722

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220129.1250.001.html>

[网络出版日期] 2022-01-29 17:29

Effect of Mitochondrial Function on Cell Senescence and Anti-aging Effect of Traditional Chinese Medicine and Moxibustion: A Review

WANG Hui¹, CHEN Li-mei^{2*}, SHAN Si¹, ZHANG Gao-chuan¹, WEN Xiao-li¹,
TU Zhuo-jing¹, LIU Hong-ning^{1*}

(1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

[Abstract] Since ancient times, delaying aging, health, and longevity have been the universal wish of people. Nowadays, China gives top strategic priority to the development of people's health. How to maintain a healthy life and slow down the aging of the human body is a problem worthy of our attention. Human aging can be shown as cell senescence from the microscopic level. Cell senescence is a process in which cell proliferation and differentiation and physiological function gradually decline. It is a normal physiological function responsible for the removal of damaged cells and is the regeneration and recovery of tissues after injury or acute stress. Aging

[收稿日期] 2021-10-26

[基金项目] 江西民族传统药现代科技与产业发展协同创新中心项目(5241400101);国家中医药管理局项目(GZY-GCS-2017-01);国家中医药管理局《中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)》项目(国中医药人教函[2018]288号)

[第一作者] 王慧,在读硕士,从事艾灸作用机制研究,E-mail:hwang0024@163.com

[通信作者] *陈丽梅,博士,主管药师,从事艾灸作用机制研究,E-mail:416325174@qq.com;

*刘红宁,岐黄学者,博士生导师,教授,从事中医病因病机研究,E-mail:lhn0791@163.com

is an irresistible natural law. Although it is inevitable, it is possible to delay aging. Energy metabolism is an important basis of cell function, in which cells use nutrients such as sugar and fat to produce adenosine triphosphate (ATP). Mitochondria serve as the cell's power stations, where sugars, fats, and amino acids are eventually oxidized to release energy. Mitochondrial function decreases with age. Changes in mitochondrial dynamics, reactive oxygen species content, autophagy, and metabolites can cause dysfunction of electron transport chain and oxidative phosphorylation, and induce mitochondrial dysfunction. Mitochondrial dysfunction is one of the internal causes of many aging-related diseases, such as neurodegenerative diseases, Alzheimer's disease, and atherosclerosis. Chinese medicine with few side effects and rich ingredients and health care moxibustion with safety and efficacy have been widely applied to the field of anti-aging. This study reviewed the effect of mitochondrial function on cell senescence, and retrieved, analyzed, and summarized research papers on the mechanism of traditional Chinese medicine (TCM) and moxibustion in delaying aging by affecting mitochondrial function, which is expected to provide new insights for further research in this field.

[Keywords] mitochondria; cell senescence; Chinese medicine; moxibustion

人口老龄化及衰老引起相关疾病的问题越来越突出,细胞衰老是一种由内部或外部刺激诱导的细胞状态,会导致细胞周期停滞、形态变化、线粒体和溶酶体功能障碍及衰老相关的分泌表型^[1]。细胞的功能变化也会导致细胞提前衰老。细胞衰老通过凋亡和免疫系统促进受损细胞的清除,从而保护组织免受肿瘤的发生。但老年人衰老细胞形成率的增加和清除率的降低导致了衰老细胞的积累^[2],控制衰老细胞的积累可以抑制衰老过程和肿瘤的发生。

线粒体存在于真核细胞中,是一种双膜、半自主的细胞器,线粒体外膜呈海绵状,允许分子量小的、不带电的分子和离子自由交叉运动通过,较大分子量的物质如蛋白质,必须通过载体或转位酶才能在线粒体内运输^[3]。细胞活动所需的能量95%来自线粒体,故被称为“动力工厂”。不同类型的细胞,含线粒体的数量相差很大,一般心肌细胞、骨骼肌细胞、肝脏细胞等代谢旺盛的细胞线粒体含量较多。线粒体在细胞增殖、代谢和凋亡等多种细胞过程中起着至关重要的作用^[4],在功能上调控能量的产生、电子传递链、细胞信号、凋亡和程序性细胞死亡,他们的功能紊乱会导致严重的健康问题。线粒体代谢异常是许多衰老相关病理的特征,线粒体功能障碍被认为是细胞衰老的标志^[5]。细胞衰老会诱导组织的衰老,最终导致机体衰老。线粒体在机体衰老中的作用是当今热点之一,线粒体动力学、活性氧含量、自噬、代谢物的改变会引起电子传递链、氧化磷酸化等功能失调,诱发线粒体功能失调,引起细胞衰老。

传统中医药是中华民族的瑰宝,中药是以中医

药理论为指导,并基于整体观用药。中药可以通过多种线粒体功能相关途径调控细胞衰老的多个通路的信号转导,发挥延缓细胞衰老的作用。随着中医药大健康产业的推进,艾灸作为一种简单易行有效的方法受到越来越多的重视。艾灸作用于机体效应的发挥主要依赖热、光、烟等因素,艾绒燃烧时,通过产生物理、生理效应及远红外光谱与近红外光谱,作用于人体的皮肤与经络腧穴,来调节机体内分泌、免疫、消化、呼吸、生殖、神经等系统^[6-8]。近年来,艾灸因其安全性和有效性在延缓衰老方面的作用受到很大关注。随着人口老龄化的发展,研究中医药及艾灸对线粒体功能及其对细胞衰老的影响具有重要的意义,但目前缺乏这方面总结性的文章,本文系统总结了线粒体功能对细胞衰老的影响及中医药与艾灸延缓衰老的研究进展,为中医药与艾灸延缓细胞衰老提供新的基础。

1 线粒体对细胞衰老的影响

1.1 线粒体动力学对细胞衰老的影响 线粒体是一个动态流动的细胞器,能够融合使线粒体延长,也可分裂使线粒体形成碎片,其形状可根据功能的需要而发生变化,从而保持一个动态的平衡状态。线粒体动力学能够调节线粒体形态,促进线粒体物质交换,并影响细胞所需能量的产生^[9]。由于线粒体具有双层膜结构,线粒体的融合与分裂需要外膜与内膜的共同参与,且需要一系列蛋白分子进行介导和调控。线粒体的融合主要受一系列线粒体跨膜鸟苷-5'-三磷酸酶(GTP)如线粒体融合蛋白1(Mfn1)、线粒体融合蛋白2(Mfn2)及视神经萎缩基因1(Opa1)的调控,而分裂涉及的蛋白有线粒体动力相关蛋白1(Drp1)和线粒体分裂蛋白1(Fis1)。

Mfn1和Mfn2存在于细胞质内,参与线粒体外膜的融合,这是线粒体网状结构的形成所必需的^[10],Opa1位于线粒体内膜,调控内膜的融合,3种融合蛋白对于线粒体融合均是必不可少的^[11]。线粒体结构图及线粒体融合和分裂见图1。

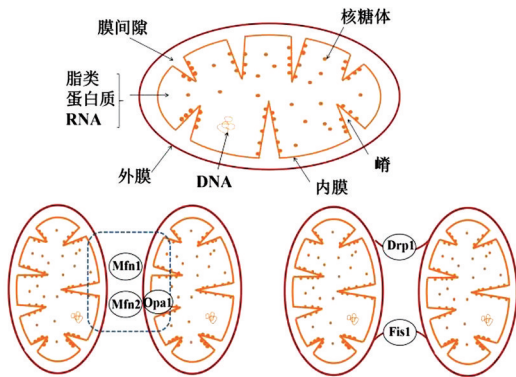


图1 线粒体结构图及线粒体融合和分裂

Fig. 1 Mitochondrial structure and mitochondrial fusion and division

线粒体经历着连续的融合和分裂循环,Drp1蛋白进行外膜的裂变,介导线粒体分裂,易响应特定的细胞信号,这些信号从细胞质转移到线粒体外膜上,并在线粒体分裂点上形成环状结构。Drp1的活性被阻断或通过Fis1耗尽阻止分裂过程来维持延长的线粒体都会导致细胞衰老^[12-13]。PICCA等^[14]认为线粒体动力学的变化可以促进细胞衰老,延长线粒体影响细胞信号和细胞功能可能促进线粒体应激后细胞生长停滞。线粒体融合与细胞衰老有什么联系?缺乏Mfn1和Mfn2的细胞完全缺乏线粒体融合,表现出严重的细胞缺陷,包括细胞生长不良,线粒体膜电位普遍不均匀,细胞呼吸减弱^[15]。线粒体融合反应细胞压力,使线粒体拥有更多的嵴,刺激更多的ATP酶活性,维持ATP的生产,并逃脱线粒体自噬降解^[16]。因此,线粒体也可以使有缺陷的线粒体恢复其基本成分和细胞功能。融合指数是指融合/分裂之比,存在一个2.0左右的阈值,低于这个阈值的话,表明线粒体的分裂和融合仍然活跃,并有效的去除受损的细胞器及正常通信,有助于长寿^[13]。线粒体的形态结构是动态的,线粒体融合与ATP的生成呈正相关,融合抑制与氧化磷酸化受损、线粒体DNA(mtDNA)缺失和线粒体活性氧(ROS)生成有关^[17]。

1.2 线粒体活性氧对细胞衰老的影响 根据衰老线粒体自由基理论,线粒体ROS对组织的累积损伤是导致衰老的主要原因。在衰老过程中,电子传递

链(ETC)蛋白的活性下降,氧化磷酸化作用降低。线粒体的主要作用是为细胞生产ATP,这个过程依赖氧化磷酸化。在氧化磷酸化的过程中产生未配对的电子,这些未配对的电子与氧气发生作用,产生反应极强的超氧阴离子,超氧阴离子被转化为其他活性氧,如过氧化氢(H_2O_2)和羟基离子($-OH$)^[18],且ROS约90%都是由氧化磷酸化(OXPHOS)产生,线粒体是ROS主要来源^[19]。线粒体中至少有8个位点参与活性氧的产生,其中位于呼吸链内的线粒体复合物I、II、III、IV对活性氧的产生有重要的贡献^[20-21]。线粒体复合物I通过①高烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化态/烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化态还原态($NAD^+/NADH$)导致复合物I上黄素单核苷酸(FMN)位点的减少;②辅酶Q(CoQ)池的电子输运与高质子动力 Δp 耦合导致电子反向输运这两种生物学机制共同产生大量自由基。线粒体呼吸链复合物II又称为琥珀酸脱氢酶(SDH),包含4个亚基SDHA、SDHB、SDHC和SDHD,其中任何一个亚基发生突变,都有可能刺激线粒体呼吸链功能障碍,增加活性氧的产生。线粒体复合物III(细胞色素C氧化还原酶)对多种生物的呼吸能量转导途径具有重要的作用,同时通过正向和反向电子转移产生活性氧^[22]。复合物I和III通常被认为是释放到线粒体基质和膜间隙中的活性氧的主要生产者^[23]。

活性氧水平对细胞的作用表现出双重反应。轻微的ROS产生,可以防止细胞损伤,这是因为 H_2O_2 参与细胞功能的信号通路,而 H_2O_2 具有膜渗透性,半衰期较长,因此,可以通过硫氨酸和活性部位的干半胱氨酸残基的可逆氧化扩散到胞质醇中,改变蛋白质活性,同时改变呼吸基因的表达,诱导细胞应激反应,维持能量代谢,ROS适度增加可激活促进健康和延长生命的信号通路。适度增加ROS会促进酵母、线虫和小鼠的健康衰老和寿命增加^[24]。超出阈值的ROS会导致大范围的氧化损伤,引起细胞死亡或细胞凋亡诱导的线粒体膜通透性转换及与细胞凋亡因子的释放,如细胞色素C。ROS可诱导细胞内多种大分子的损伤,如蛋白质、脂质、核酸等,其可在端粒区域导致单链断裂,加速端粒的缩短,最终导致细胞衰老^[25-26]。研究表明,衰老细胞中的ROS会持续产生DNA损伤反应(DDR),从而加强衰老表型的细胞周期停止^[27]。线粒体DNA比核DNA更容易受到损伤,其突变率是核基因的10~20倍,这是由于线粒体基因组不包括内含子或组蛋白,离活性氧产生的位点很近,容易

受到ROS的攻击^[28]。在老化的小鼠心脏和大脑中积累的大多数mtDNA突变都可归因于ROS,并遵循指数趋势^[29]。线粒体既是ROS的产生主要来源,同时也是ROS的靶点,线粒体位点离ROS最近,最容易受到ROS的攻击,如此进行恶性循环。ROS诱导的线粒体DNA突变导致线粒体功能障碍等损伤,进而增加ROS的产生,导致线粒体进一步突变,损伤线粒体成分。

ROS主要通过以下途径诱导细胞衰老,①ROS通过直接破坏mtDNA或与端粒酶逆转录酶(TERT)和抑癌基因(p53)、修饰Ras通路活性的协同作用,促进细胞衰老的发生和发展^[30];②ROS通过Ras、p53、p21和p16信号通路发挥作用,ROS作为信号通路不会引起DNA损伤,但严格调控信号传导的过程,可诱导细胞衰老^[30];③高水平的ROS激活p53,诱导自噬抑制,这一过程会导致线粒体功能障碍,进而诱导细胞衰老。自噬抑制使衰老细胞将氧化蛋白和蛋白碳基与脂质过氧化和蛋白糖基化产物聚合成脂褐素^[31];④非编码RNA(miRNA)驱动的线粒体功能障碍和ROS增加是许多衰老组织和衰老细胞的共同特征,同时ROS也可诱导miR210和miR494等微小RNA产生线粒体功能障碍和自噬抑制^[32]。③、④途径在ROS产生过程中产生恶性循环。自噬抑制导致脂褐素积累,进而激活进一步的自噬损伤和ROS的产生。①、②、③、④都可能增加DNA损伤和线粒体及细胞代谢稳态功能障碍^[33]。

1.3 线粒体自噬对细胞衰老的影响 线粒体不断分裂融合的动态变化是线粒体自噬的前提条件^[34]。自噬是溶酶体促进细胞内成分降解的几种细胞途径的统称,是一种质量控制机制,可选择性的清除有毒细胞成分。自噬介导的降解过程具有底物特异性,选择性自噬是根据特异性底物进行分类,其中线粒体自噬与细胞衰老的发生有密切的关系^[35]。线粒体自噬是线粒体质量控制的一种机制,受损和功能失调的线粒体可以通过自噬选择性地识别和移除。在这个过程中,线粒体被与张力蛋白同源在10号染色体有缺失的磷酸酶基因(PTEN)诱导的假定激酶1(PINK1)和帕金蛋白(Parkin)、有丝分裂吞噬受体Nix和Bnip3及其他相关调节剂识别为选择性自噬^[36]。Bnip3和Nix介导的线粒体自噬,不同于Parkin/PINK1通路,因为Bnip3和Nix蛋白可直接与线粒体作用并靶向与自噬体相连^[37]。PINK1未被蛋白水解酶降解,在线粒体外膜上不断聚集和累积,这种聚集导致了E3泛素连接酶Parkin的募集,

促进受损线粒体上泛素链的形成,这些泛素链随后被自噬受体蛋白(Optineurin)、核点蛋白52(NDP52)和Tax1结合蛋白1(TAX1BP1)识别。含有线粒体的自噬体随后被转运到溶酶体并与溶酶体结合,在溶酶体中降解。这就是自噬的2种模式:泛素介导的自噬和受体介导的自噬。线粒体自噬对细胞功能和生存能力的维持很重要,其在细胞衰老中的调控和功能作用在一定程度上独立于一般的自噬。在衰老模型中,一般的自噬呈上升或降低的状态,但在体内或体外衰老细胞中,线粒体自噬活性降低,这可能是其上游调节因子(mTOR)发生变化或溶酶体超载,导致线粒体吞噬活性降低^[38-39]。尽管在细胞衰老过程中溶酶体间室广泛扩张,但溶酶体的活性降低,其在衰老过程未降解的聚合物在溶酶体内积累称为脂褐素,溶酶体内无法降解的线粒体是脂褐素的主要来源。脂褐素的积累会阻碍线粒体自噬,导致细胞内衰老和功能受损的线粒体堆积,从而引起蛋白折叠错误及阻碍其他物质的降解,自噬的恶化又进一步导致受损线粒体的积累,增加脂褐素的来源,促进细胞衰老。另一方面,细胞质中的p53在衰老过程中积累,与Parkin相互作用,阻止其转位到功能失调的线粒体上,从而抑制线粒体吞噬和促进衰老,同样的,PINK1在衰老的细胞中表达较低,抑制线粒体自噬,增加衰老转变的可能性。

自噬过程既是细胞衰老的抑制剂,又是细胞衰老的驱动因素。自噬可以通过自噬空间偶联室回收高通量的氨基酸和其他代谢产物,随后被哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)用于诱导衰老相关分泌表型和促进衰老。在衰老过程中,降解促衰老因子GATA4有助于抑制衰老^[40],敲除自噬相关蛋白ATG7、ATG12和溶酶体关联膜蛋白2(Lamp2)可导致加速衰老,缺乏自噬相关蛋白ATG32的细胞表现出线粒体ROS积累和mtDNA不稳定性,因此在应激条件下,自噬有助于线粒体适应^[41],有助于mtDNA的维护^[42]。使用雷帕霉素(自噬激活剂)治疗衰老细胞,雷帕霉素可以促进线粒体自噬来减少受损线粒体的数量和ROS的生成^[43]。自噬损伤与衰老发育呈正相关,通过自噬激活可对抗细胞衰老^[44]。

1.4 线粒体代谢物对细胞衰老的影响 三羧酸循环(TCA)是各种有机物进行最后氧化的过程,在线粒体基质中,乙酰辅酶A(CoA)与草酰乙酸结合成柠檬酸而进入柠檬酸循环。在乌头酸酶的催化下,

柠檬酸可异构化生成异柠檬酸。异柠檬酸在异柠檬酸脱氢酶作用下氧化脱羧生成 α -酮戊二酸, α -酮戊二酸再氧化成琥珀酰 CoA 和 CO_2 。琥珀酰 CoA 在琥珀酰 CoA 合成酶的作用下脱去 CoA 和高能硫键生成琥珀酸,琥珀酸在琥珀酸脱氢酶的作用下氧化脱氢生成延胡索酸,接着延胡索酸和水化合而成苹果酸,苹果酸氧化脱氢生成草酰乙酸再回到第一步循环往复。所有的氧化步骤都需要氧化形式的辅因子烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)或黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)作为还原当量的受体,TCA 循环过程中脱下的氢原子以 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 和 FADH_2 的形式进入呼吸链,最后传递给氧生成水,在此过程中释放的能量可以合成 ATP。衰老通常伴随着线粒体酶活性的下降,每个线粒体呼吸能力的下降(如底物依赖性耗氧量)。TCA 循环在与衰老相关的信号传导和代谢失调中,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸、还原型烟酰胺二核苷酸磷酸酯、 α -酮戊二酸和 β -羟基丁酸这些代谢物起着核心作用^[45]。另外,三羧酸循环的中间产物可用来合成包括氨基酸、卟啉及嘧啶核苷酸在内的许多物质^[46]。

线粒体被认为是细胞的动力源,线粒体电子传递链的蛋白质复合物形成细胞功能所必需的重要辅因子和代谢产物。电子传递链的复合物 I 将 NADH 氧化为 NAD^+ , NAD^+/NADH 的降低会导致 ATP 的产生速率和细胞内 ATP 供应的减少。 NAD^+ 的细胞水平和 NAD^+ 传感器的激活在衰老过程中起着关键作用。 NAD^+/NADH 是衰老的一个特征,随着年龄的增长,组织中 NAD^+ 的水平会下降^[47]。低比例可能是由于衰老过程中细胞内苹果酸脱氢酶水平降低所致,该酶可以将草酰乙酸转化为苹果酸。另一个关键的代谢酶是烟酰胺磷脂酰转移酶,可以修复 NAD^+ ^[48]。 NAD^+ 修复通路受损会导致细胞过早衰老,修复通路的激活会延长细胞的复制寿命^[49]。许多酶反应都需要 NAD^+ , 如三羧酸循环、DNA 修复和蛋白质乙酰化等, NAD^+ 对二磷酸腺苷(ADP)核糖聚合(PARP)、DNA 修复和沉默信息调节因子(Sirtuins)的活性非常重要。Sirtuins 是高度保守的依赖于 NAD^+ 的脱乙酰酶和 ADP 核糖基转移酶蛋白^[50]。人类 SIRT 是一个由 7 个 NAD^+ 依赖性酶组成的家族,其中 3 个位于线粒体内(SIRT 3~5)。其中 SIRT1 通过靶蛋白如过氧化物酶体增殖物激活受体共激活因子 1(PGC1)和缺氧诱导因子-1(HIF-1)的脱乙酰化促进线粒体的生物发生^[51]。聚腺苷二磷酸核糖聚合酶家族(PARPs)是通过促进 DNA 链

断裂的修复来应对基因毒性应激以防止细胞衰老^[52], 靶向 PARPs, 特别是 PARP1, 是老年领域一种很有前途的治疗策略。另一种与细胞衰老有关的 NAD^+ 依赖的蛋白是苹果酸酶,其能通过氧化脱羧作用将 TCA 代谢物苹果酸转化为丙酮酸^[53]。苹果酸酶的缺失会增加 ROS 的水平和激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)来触发 p53-依赖型衰老^[54], 因此 SUN 等^[55]认为 p53 介导衰老的能力可能部分是通过其调节 TCA 代谢的能力。这些数据表明线粒体中 NAD^+ 水平的降低及 NAD^+ 依赖酶活性的减少最终会导致细胞衰老。除 NAD^+ 外,线粒体还会产生其他代谢产物,如线粒体丙酮酸脱氢酶(PDH)的过表达会增加丙酮酸的消耗和细胞呼吸,可增强甲状腺癌中最常见的一种基因突变形式 BRAF V600E 癌基因诱导衰老^[56]。

α -酮戊二酸(AKG)是三羧酸循环中的关键代谢物,参与细胞能量代谢和线粒体呼吸。 α -酮戊二酸脱氢酶催化 AKG 氧化脱羧,形成琥珀酰 CoA 和 NADH。AKG 是谷氨酸、谷氨酰胺、亮氨酸和脯氨酸等氨基酸生物合成的前体^[57]。AKG 水平会随着禁食、运动和衰老而变化,据报道 AKG 可以延长线虫和果蝇的寿命,也可以显著延长小鼠的寿命,是由于抑制雷帕霉素靶点蛋白(TOR)激酶并促进一种类似于限制热量所诱导的状态^[58-59]。AKG 抑制 ATP 合成酶,类似于 ATP 合成酶敲除,会导致 ATP 含量减少,耗氧量减少,自体死亡增加。饥饿时内源性 AKG 水平升高,AKG 不能延长限食动物的寿命,表明 AKG 是通过限食调节长寿的关键代谢物^[60]。补充 CaAKG 可以延长小鼠的健康寿命,同时降低炎症细胞因子的水平^[61]。同时 AKG 可以刺激线粒体产生活性氧,适度刺激 ROS 产生可能具有相当有益的生物学效应,诱导防御机制从而提高对压力源和与年龄相关的疾病的抵抗力并减缓功能性衰老^[62]。谷氨酸脱氢酶是参与 AKG 代谢的另一重要酶。动物谷氨酸脱氢酶同时使用 NAD^+ 和 NADP^+ 作为辅酶,使用 NAD^+ 作为辅酶进行谷氨酸氧化脱氨,而还原型辅酶 II (NADPH) 用于 AKG 对谷氨酸的还原胺化。在大脑中,谷氨酸是一种重要的兴奋性神经递质,其代谢物 γ -氨基丁酸对突触传递有抑制作用^[63]。研究发现,与年轻人相比,老年人血浆中 AKG 的水平显著降低。鉴于这一事实,并考虑到 AKG 生理功能的多样性, HARRISON 等^[64]提出内源性 AKG 水平的降低可能是老化的标志。

电子传输链(ETC)与 ATP 合酶复合体是氧化磷

酸化的结构基础,ETC由4个位于线粒体膜内的酶复合物(复合物I-IV)和2个可移动的电子载体辅酶Q(泛醌)和细胞色素C(Cyt C)组成,他们允许NADH和FADH₂通过氧化还原反应传递高能电子。复合体I含有许多硫醇基团,在老化过程中容易受到氧化损伤,导致其活性丧失。有研究显示大鼠皮层线粒体中复合体I酶活性随年龄的增长而显著降低^[65]。随着机体年龄的增长,由于ETC复合体III和IV活性的降低,线粒体的数量和质量都会减少,OXPHOS的能力也会降低^[66]。复合体I和IV的活性在衰老肌肉中降低,可能是因为这些复合体包含mtDNA编码的亚基,而线粒体DNA更容易受到来自呼吸链的ROS影响^[67]。复合体II在哺乳动物细胞衰老过程中的作用也值得更详尽的分析。ETC活性降低影响与细胞衰老相关的多个通路:ATP生成减少,AMPK介导的p53通路进一步被激活^[68];降低NAD⁺/NADH和随后PARPs及Sirtuins的失调^[69];线粒体NAD⁺低水平也可通过失活苹果酶(MEs)触发p53依赖的衰老途径^[70];NAD⁺调控的另一个轴是Sirtuin介导的过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 协同激活因子-1 α (PGC-1 α)的调控,PGC-1 α 是能量代谢的主要协同激活因子^[71]。

1.5 线粒体膜电位对细胞衰老的影响 线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)由与三羧酸循环活性相关的氧化还原转化产生,并作为能量存储的中间形式,由ATP合酶用于产生ATP。细胞中 $\Delta\Psi_m$ 和ATP的水平保持相对稳定,尽管这2种因素可能发生的波动有限,反映了正常的生理活动,但这2个因素的持续变化可能是有害的。 $\Delta\Psi_m$ 通过选择性消除功能失调的线粒体,在线粒体稳态中发挥关键作用。根据最近的研究发现, $\Delta\Psi_m$ 不仅可以用于ATP合成,而且也是决定线粒体活性的因素,参与消除失能线粒体的过程。也是一种运输带电化合物的动力,对线粒体活力至关重要^[72]。 $\Delta\Psi_m$ 的形成主要依赖于内膜上的电子传递链中的复合体I,其对于维持线粒体的完整性和功能起着重要作用,膜电位的改变就意味着内膜的通透性发生了改变^[73],这也是细胞衰老的机制之一。

线粒体的其他同样重要的核心功能,如线粒体碳代谢和NAD稳态作为复杂机制的一部分,为细胞提供还原等效物和生物合成中间体。相关性并不意味着因果关系。要证明这种关系,需要进行实验研究。线粒体功能障碍既是衰老的原因,也是衰老的后果,线粒体功能障碍被广泛认为是组织和有机

体衰老的驱动因素,在衰老过程中维持线粒体的生物发生能力被认为是阻止衰老相关疾病进展的关键因素。而细胞衰老的话,线粒体的生物发生受到损害而中断,线粒体的运转减缓,结果会加速活性氧、氧化脂质、蛋白质和突变DNA的积累、损害OXPHOS的活性等,进一步加剧衰老状况。

2 中医药及艾灸疗法干预研究

2.1 中药复方、单味药及活性物质对线粒体功能及细胞衰老的影响 中药在抗衰老方面具有得天独厚的优势,应用历史悠久。中药复方毓麟珠通过减少ROS、丙二醛(MDA),增加谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),升高线粒体膜电位,改善卵母细胞线粒体功能从而改善自然衰老小鼠的卵巢功能^[74]。调更汤可通过抑制ASK1/MKK7/JNK介导的神经元线粒体或细胞核凋亡来调节4个月大的去卵巢(OVX)大鼠下丘脑神经元与衰老相关的超微结构变化^[75]。人参-三七-川芎提取物通过AMPK途径刺激线粒体自噬从而防止高糖和棕榈酸酯(HG/PA)诱导的血管内皮细胞(HAEC)衰老和线粒体活性氧(mtROS)产生^[76]。和首乌饮对睾丸具有抗衰老作用,其作用机制是抑制生精细胞凋亡的发生,从而改善睾丸的生精功能,主要是通过调控线粒体凋亡通路中关键基因沉默死亡受体6(DR6)、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)相关X蛋白(Bax)、胱天蛋白酶-3(Caspase-3)和Cyt C的表达来实现的^[77]。

中药中含有酚类成分的天然化合物,包括槲皮素、白藜芦醇等也能通过改善线粒体的功能延缓细胞衰老。白藜芦醇联合大豆异黄酮提高抗氧化能力、增加环氧合酶I(COX I)蛋白表达及Bcl-2与Bax的比例、抑制Cyt C的释放可能是二者联合改善衰老大鼠细胞凋亡的机制^[78]。同时,白藜芦醇能够调节SIRT1和AMPK的活性发挥抗衰老作用。白藜芦醇水平较低时,SIRT1可以去乙酰化并激活AMPK的上游激酶肝激酶B1(LKB1),从而提高AMPK的活性。AMPK刺激能量分解代谢,增加细胞NAD⁺水平,进一步增加SIRT1活性^[79]。白藜芦醇可增强老年奶牛的颗粒细胞和卵母细胞SIRT1的表达,提高颗粒细胞中真核翻译起始因子-2(eIF-2)相关基因的表达,并可下调mTOR、炎症靶点和胆固醇稳态相关基因的表达^[80],白藜芦醇能增强Drp1/Parkin/PINK1信号通路可能是其治疗与衰老相关的心血管并发症的潜在机制^[81]。槲皮素通过SIRT3介导的SOD2的K68残基乙酰化来减少ROS,减少细胞凋亡和改善自噬,对衰老卵母细胞产生有益的线

粒体相关影响^[82],通过激活 SIRT1/PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬来缓解单侧输尿管梗阻(UUO)模型大鼠肾小管上皮细胞(RTEC)肾纤维化^[83]。

世界人口老龄化进程使与年龄相关的神经退行性疾病成为现代社会最大的未解决问题之一,线粒体功能相关研究在神经退行性疾病方向大受欢迎。中药成分黄酮类木犀草素增加了神经元线粒体和内质网(ER)之间的接触,有助于增加线粒体钙(Ca²⁺)和Ca²⁺依赖性丙酮酸脱氢酶活性,同时线粒体功能的增加还取决于神经元和分离的突触体中ER Ca²⁺释放通道肌醇1,4,5-三磷酸受体(IP3Rs)的活性^[84]。脑内ROS的主要来源之一是线粒体^[85]。假马齿苋提取物被证明可以通过减少产生ROS的受损线粒体来保护永生化的原代胎儿星形胶质细胞免受苯并(a)芘(B[a]P)诱导的细胞凋亡和衰老,从而对抗衰老相关的神经系统疾病^[86]。黄芪甲苷是来自传统中草药黄芪的抗氧化衍生物,具有抗炎和长寿作用及神经保护活性,可通过促进线粒体自噬,减少受损线粒体的积累和线粒体活性氧的产生,进而抑制星形胶质细胞的衰老^[87]。

人参皂苷Rh₂是一种潜在的治疗衰老相关疾病的候选药物,Rh₂通过增加PINK1和Parkin的表达及降低PGC-1 α 的水平来显著促进线粒体自噬^[88]。人参皂苷Rg₁通过抑制衰老大鼠模型的Sca-1⁺HSC/HPC细胞中的线粒体通路介导的细胞凋亡和激活Sirt3/SOD2通路来发挥抗衰老功能^[89]。菟丝子种子提取物通过线粒体依赖性途径发挥作用,减少氧化应激诱导的小鼠成骨细胞(MC3T3-E1)线粒体中Cyt C的释放,从而增加抗凋亡异柠檬酸脱氢酶2(IDH2)、Sirt3和Bcl-2的表达,并降低Bax、Cyt C和Caspase-3的表达^[90]。枸杞多糖通过调节ROS的产生、 $\Delta\Psi_m$ 、Bcl-2家族、抗氧化酶的活性,保护人晶状体上皮细胞免受H₂O₂诱导的凋亡^[91]。山药根茎提取物及其活性化合物尿囊素显著增加PGC-1 α 、Sirt-1、核呼吸因子-1(NRF-1)和线粒体转录因子A(TFAM)的表达,来增加能量产生^[92]。红景天苷能逆转衰老细胞中升高的miR-22,并降低Sirt1表达,通过增加线粒体质量和线粒体生物发生的关键调控因子包括PGC-1、NRF-1、TFAM,从而逆转衰老50PD细胞的线粒体功能障碍,并显示出与白藜芦醇类似的效果^[93]。黄芩素通过去除ROS来保护线粒体功能来消除H₂O₂诱导的细胞凋亡^[94]。

另外,还有一些水果比如石榴中的尿石素A已被研究发现可以防止线粒体功能的年龄依赖性衰

退,其有助于线粒体自噬而改善人类线粒体的功能^[95-96]。中药化学成分复杂,影响因素众多,效应层面和微观层面(如基因、蛋白、分子、细胞等)的结合深入探究还有待去揭示。中药复方、单味药及活性物质对线粒体功能及细胞衰老的作用机制见表1。

2.2 艾灸对线粒体功能及细胞衰老的影响 艾灸疗法是一种替代疗法,主要通过热效应、光效应和药效应等为细胞生命提供直接能量,由于其安全性和有效性而越来越受欢迎。

2.2.1 艾灸对线粒体动力学的影响 线粒体是细胞内氧化磷酸化和形成ATP的主要场所,随着年龄的增长,线粒体的氧化磷酸化功能减弱,由此造成ATP生成减少,引起维持细胞生理、生化活动所需能量的供应不足,最终导致组织、器官功能的衰退,促进机体老化。艾灸对阿尔茨海默病(AD)模型大鼠海马神经元的有益作用可能是通过调节线粒体动力学(裂变蛋白与融合蛋白失衡)和改善海马线粒体损伤来实现的,对AD大鼠来说,针刺加艾灸“百会”和“肾俞”穴的方法治疗,每日1次,每次15 min,7 d为1个疗程,共计2个疗程,疗程间休息1 d能有效上调AD大鼠海马神经元Opa1的水平,下调Fis1的水平^[97]。线粒体动力学与中风后脑损伤的各种病理生理机制密切相关。线粒体动力学可以通过调节线粒体的数量、形态和功能来影响能量代谢和卒中后神经元功能,有望成为治疗缺血性中风的新治疗靶点^[98]。

2.2.2 艾灸对线粒体代谢物的影响 三羧酸循环(TCA)是线粒体中3种营养物质(糖、脂肪和蛋白质)有氧代谢和相互转化的主要代谢途径,代谢组学因其具有整体性和动态性的特点,近年来越来越多的被运用来阐释艾灸的作用机制。HA等^[99]等学者采用每日灸关元穴15 min,每周灸6 d,共8周的方法,运用靶向代谢组学技术研究艾灸对AD小鼠能量代谢的影响,结果发现艾灸可显著升高AD模型小鼠丙酮酸、 α -酮戊二酸、苹果酸、富马酸水平,显示艾灸治疗可以改善AD小鼠能量代谢的紊乱。于梦芸^[100]采用代谢组学分析手段观察艾灸关元穴对淀粉样前体蛋白/早老素1(APP/PS1)小鼠尿液三羧酸循环代谢产物的影响,通过20 min·d⁻¹,6 d/周,共8周干预后发现艾灸可提高APP/PS1小鼠尿液中柠檬酸、 α -酮戊二酸、延胡索酸、琥珀酸、苹果酸的含量。HE等^[101]运用¹H NMR分析电针和艾灸对慢性萎缩性胃炎(CAG)模型大鼠的影响,干预方法均为每日30 min,疗程2周,发现用艾锥艾灸足三里穴和

表1 中药复方、单味药及活性物质对线粒体功能及细胞衰老的作用机制

Table 1 Mechanism of Chinese medicine compound, single drug and active substance on mitochondrial function and cell senescence

中药复方、单味药及活性物质	模型	机制	文献
毓麟珠	自然衰老小鼠	升高线粒体膜电位	[74]
调更汤	4月龄OVX大鼠	抑制ASK1/MKK7/JNK信号通路	[75]
和首乌饮	自然衰老	调控线粒体凋亡通路中DR6、Bax、Caspase-3、Cyt C表达	[77]
人参-三七-川芎提取物	HG/PA诱导衰老细胞(HAEC)	调控AMPK通路	[76]
假马齿苋提取物	星形胶质细胞衰老	减少受损线粒体	[86]
菟丝子种子提取物	小鼠成骨细胞(MC3T3-E1)	减少Cyt C释放、增加IDH2、Sirt3和Bcl-2表达,降低Bax、Cyt C和Caspase-3表达	[90]
山药根茎提取物及尿囊素	骨骼肌成肌细胞(C2C12)	增加PGC-1 α 、Sirt-1、NRF-1和TFAM表达	[92]
白藜芦醇联合大豆异黄酮	衰老	增加COX I表达、Bcl-2和Bax的比例,抑制Cyt C	[78]
白藜芦醇	老年奶牛	增强SIRT1、eIF-2表达,下调mTOR相关基因表达	[80]
	D-半乳糖诱导衰老细胞(H9c2)	增强Drp1/Parkin/PINK1信号通路	[81]
槲皮素	衰老卵母细胞	通过Sirt3介导的SOD2的K68残基乙酰化	[82]
	UUO模型大鼠	激活SIRT1/PINK1/Parkin通路	[83]
木犀草素	神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y)	增加Ca ²⁺ 和Ca ²⁺ 依赖性丙酮酸脱氢酶活性、取决于IP3Rs活性	[84]
黄芪甲苷	星形胶质细胞衰老	促进线粒体自噬、减少受损线粒体	[87]
人参皂苷Rh ₂	阿霉素诱导的衰老乳腺上皮细胞(MCF-10A)	增加PINK1和Parkin表达、降低PGC-1 α 水平	[88]
人参皂苷Rg ₁	D-半乳糖诱导衰老大鼠	激活SIRT3/SOD2通路	[89]
枸杞多糖	人晶状体上皮细胞	调节ROS产生、 $\Delta\Psi_m$ 、Bcl-2家族、抗氧化酶活性	[91]
红景天苷	50PD细胞	降低miR-22、Sirt1表达,增加PGC-1、NRF-1、TFAM表达	[93]
黄芩素	H ₂ O ₂ 诱导的RT4-D6P2T Schwann细胞	去除ROS	[94]

梁门穴治疗较电针治疗能逆转更多与能量代谢有关的代谢产物。并且单纯艾灸治疗可使肝组织肌醇、柠檬酸、次黄嘌呤、腺苷、赖氨酸水平和肾组织烟酰胺、腺苷水平得到调节。

2.2.3 艾灸对线粒体自噬的影响 艾灸可通过影响线粒体自噬相关基因的表达减轻机体衰老相关疾病的症状。HAO等^[102]通过对大鼠足三里穴(ST36)每日艾灸20 min,持续15 d的实验,发现艾灸可上调自噬相关基因(ATG3、ATG5、ATG12、Beclin-1)和丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶非配位51样激酶1(ULK1 mRNAs)及微管相关蛋白3轻链II(LC3 II)蛋白的表达,增强细胞自噬,从而减轻类风湿性关节炎(RA)大鼠足底滑膜组织足部水肿及炎症损伤。同时LI等^[103]对慢性心力衰竭(CHF)模型大鼠肺俞穴(BL13)和心俞穴(BL15)进行艾灸,每日悬灸20 min,持续3周,发现艾灸可以保护心力衰竭大鼠的心功能,提高mTOR表达并调节自噬相关基因

(Vps34、Atg3、Atg5、Atg7、Atg12和Atg13)的表达。

2.2.4 艾灸对线粒体膜电位的影响 杜艳军^[104]通过对自然老龄大鼠(17月龄)“百会”“肾俞”穴上方2~3 cm处悬灸,每日1次,每次每穴10 min,5 d为1疗程,共8个疗程的方法干预,发现艾灸具有抑制大鼠海马神经元线粒体膜电位的改变,减少神经元凋亡从而延缓脑老化的作用。

另外,艾灸在线粒体其他相关蛋白质和基因也能够发挥延缓细胞衰老的作用。金琪等^[105]温和灸自然衰老大鼠关元穴40 d,每天20 min的干预方法,发现艾灸可能是激活机体内长寿基因“SIRT1”、上调叉形头转录因子O亚型3a(FoxO3a)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)的信号通路,引发一系列的抗炎反应进而达到延缓衰老的目的。在衰老动物模型中,学习和记忆能力受损的部分原因是大脑线粒体DNA损伤和修复能力缺陷^[106]。星形胶质细胞在维持中枢神经系统的神经元方面发挥着

重要作用。艾灸干预能够在一定程度上减轻衰老小鼠的这些影响。在中枢神经系统损伤过程中,神经炎症可以降低小鼠大脑线粒体和细胞膜中 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体的表达,并使线粒体更容易被诱导凋亡^[107]。而ZHANG等^[108]在右旋糖酐硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎模型(IBD)小鼠的足三里穴(ST36)和关元穴(CV4)上进行电针和艾灸各干预15 min,能提高小鼠海马体中线粒体内膜形态维持蛋白mitofilin和胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的

表达,从而起到治疗海马炎症的作用。此外,HA等^[109]通过对快速老化小鼠(SAMR1)小鼠艾灸关元和足三里穴8周,每周5次,每次10 min的实验证明,艾灸可在蛋白质和基因水平上调节淀粉样前体蛋白(APP)代谢途径中APP和海马老年斑生成相关蛋白1(BACE1)及miR-29和miR-101的表达,这可能是治疗阿尔茨海默病的潜在靶点。

艾灸对线粒体功能及细胞衰老的作用机制详见表2。

表2 艾灸对线粒体功能及细胞衰老的作用机制

Table 2 Mechanism of moxibustion on mitochondrial function and cell senescence

艾灸穴位	模型	机制	文献
百会、肾俞	AD大鼠	上调Opa1,下调Fis1	[97]
百会、肾俞	自然老龄大鼠	抑制线粒体膜电位改变,减少神经元凋亡	[104]
肺俞、心俞	CHF大鼠	提高mTOR表达并调节Vps34、Atg3、Atg5、Atg7、Atg12和Atg13表达	[103]
足三里、梁门	CAG大鼠	调节肝组织肌醇、柠檬酸、次黄嘌呤、腺苷、赖氨酸水平、肾组织烟酰胺、腺苷水平	[101]
足三里、关元	IBD小鼠	提高mitofilin、GFAP表达	[108]
足三里、关元	SAMR1小鼠	调节APP和BACE1及miR-29、miR-101表达	[109]
足三里	RA大鼠	上调自噬相关基因Atg3、Atg5、Atg12、Beclin-1和ULK1 mRNAs、LC3 II蛋白表达	[102]
关元	AD小鼠	升高尿液丙酮酸、 α -酮戊二酸、苹果酸、富马酸水平	[99]
关元	AD小鼠	提高尿液柠檬酸、 α -酮戊二酸、延胡索酸、琥珀酸、苹果酸的含量	[100]
关元	自然衰老大鼠	激活SIRT1、上调FoxO3a、PPAR α 信号通路	[105]

3 总结与展望

线粒体功能障碍被广泛认为是组织和有机体衰老的驱动因素,而与衰老相关的线粒体功能障碍和细胞衰老在很大程度上是相互关联的。衰老相关的线粒体功能障碍是否会导致细胞衰老,细胞衰老又是否会引起线粒体功能障碍呢?衰老过程中的线粒体功能障碍是一种镶嵌现象,其是优先发生还是而后发生?需要进一步的探讨。线粒体功能障碍对心血管疾病、神经退行性疾病及癌症等均产生重要的影响,针对线粒体功能障碍相关疾病的治疗中是否可以从调控线粒体功能角度入手,靶向治疗相关性疾病,有待被更多学者研究。

本文回顾了线粒体功能对细胞衰老的影响,发现线粒体功能可影响细胞衰老中衰老相关分泌表型、mTOR、AMPK、Sirtuins等细胞信号和通路,一些已被证明具有抗衰老作用的中药或中药成分及艾灸对这些通路亦有明确的作用。艾灸作为一种有效的治疗手段可影响线粒体动力学、代谢物、自噬等生物过程调节线粒体的功能,从而为机体活动提供必要的能量。不过在艾灸作用机制方面,多研究的是效应层面,缺乏可量化的现代生物学指标揭

示其深层次的作用机制,如在蛋白质水平和基因表达水平方面的量化指标。今后应在遵守中医药理论基础,应用现代生命科学,尤其是分子生物学、分子药理学、细胞生物学、药代动力学、基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学等前沿理论和方法技术,微观和宏观相结合,阐释中医药及艾灸抗衰老作用机制(作用途径、靶点、信号通路等),促进中医药及艾灸抗衰老研究的快速发展。其次,在艾灸的介入时机及艾灸的量效关系的研究较少,研究者们应将其与艾灸的深层次作用机制联合研究,这对中医治未病理论的科学阐释具有重要意义。

代谢组学在揭示艾灸等传统中医疗法生物学机制方面有很大的应用潜力,其研究生命在内、外环境影响下的内源代谢活动,包括靶向代谢组学方法和非靶向代谢组学方法。一般来说,非靶向代谢组学用于筛选潜在的代谢标志物,而靶向代谢组学用于对已知的代谢网络或代谢物进行定性和定量分析。在检测的早期阶段收集样本应准备充足,检测中应包含多种样本(如靶器官、尿液、粪便、血清等)的评估,以获得更全面、准确的结果。运用代谢组学技术可以更快的预估艾灸作用机制,找到艾灸

疗效的有效调节点。

[参考文献]

- [1] GALVIS D, WALSH D, HARRIES L W, et al. A dynamical systems model for the measurement of cellular senescence [J]. *J R Soc Interface*, 2019, 16 (159):20190311.
- [2] BAYRHUBER M, MEINS T, HABECK M, et al. Structure of the human voltage-dependent anion channel [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(40): 15370-15375.
- [3] WERNER K. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes [J]. *BMC Biology*, 2015, 13(1):89.
- [4] HUANG L, LUAN T, CHEN Y, et al. LASS2 regulates invasion and chemoresistance via ERK/Drp1 modulated mitochondrial dynamics in bladder cancer cells [J]. *J Cancer*, 2018, 9(6): 1017-1024.
- [5] LÓPEZ-OTÍN C, BLASCO M A, PARTRIDGE L, et al. The hallmarks of aging [J]. *Cell*, 2013, 153(6): 1194-1217.
- [6] 陈丽梅, 单思, 张启云, 等. 基于代谢组学研究艾灸的治疗作用 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2020, 22(1):230-236.
- [7] 吴焕淦, 翁志军, 刘慧荣, 等. 基于免疫相关性疾病的艾灸镇痛与抗炎免疫研究 [J]. *世界中医药*, 2016, 11 (12):2505-2514, 2520.
- [8] 林丽娇, 许金森, 朱小香, 等. 针灸影响微循环的研究进展 [J]. *中国针灸*, 2015, 35(2):203-208.
- [9] NUNNARI J, SUOMALAINEN A. Mitochondria: in sickness and in health [J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1145-1159.
- [10] MISHRA P, CHAN D C. Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(10): 634-646.
- [11] KAO S H, YEN M Y, WANG A G, et al. Changes in mitochondrial morphology and bioenergetics in human lymphoblastoid cells with four novel OPA1 mutations [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(4): 2269-2278.
- [12] LEE S, JEONG S Y, LIM W C, et al. Mitochondrial fission and fusion mediators, hFis1 and OPA1, modulate cellular senescence [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(31):22977-22983.
- [13] PARK Y Y, LEE S, KARBOWSKI M, et al. Loss of MARCH5 mitochondrial E3 ubiquitin ligase induces cellular senescence through dynamin-related protein 1 and mitofusin 1 [J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(4): 619-626.
- [14] PICCA A, PESCE V, SIRAGO G, et al. "What makes some rats live so long?" The mitochondrial contribution to longevity through balance of mitochondrial dynamics and mtDNA content [J]. *Exp Gerontol*, 2016, doi: 10.1016/j.exger.2016.09.010.
- [15] LEE S, JEONG S Y, LIM W C, et al. Mitochondrial fission and fusion mediators, hFis1 and OPA1, modulate cellular senescence [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(31):22977-22983.
- [16] GOMES L C, DI BENEDETTO G, SCORRANO L. During autophagy mitochondria elongate, are spared from degradation and sustain cell viability [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(5):589-598.
- [17] LIESA M, SHIRIHAI O S. Mitochondrial dynamics in the regulation of nutrient utilization and energy expenditure [J]. *Cell Metab*, 2013, 17(4):491-506.
- [18] DUCHEN M R. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology [J]. *Mol Aspects Med*, 2004, 25(4):365-451.
- [19] LIN D S, HUANG Y W, HO C S, et al. Oxidative insults and mitochondrial DNA mutation promote enhanced autophagy and mitophagy compromising cell viability in pluripotent cell model of mitochondrial disease [J]. *Cells*, 2019, 8(1):65.
- [20] LENZA G. The mitochondrial production of reactive oxygen species: Mechanisms and implications in human pathology [J]. *IUBMB Life*, 2001, 52(3/5): 159-164.
- [21] BRAND M D. The sites and topology of mitochondrial superoxide production [J]. *Exp Gerontol*, 2010, 45(7/8):466-472.
- [22] KAUSAR S, WANG F, CUI H. The role of mitochondria in reactive oxygen species generation and its implications for neurodegenerative diseases [J]. *Cells*, 2018, 7(12):274.
- [23] DRÖSE S, BRANDT U. Molecular mechanisms of superoxide production by the mitochondrial respiratory chain [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2012, doi: 10.1007/978-1-4614-3573-0_6.
- [24] LEFKIMMIATIS K, GRISAN F, IANNUCCI L F, et al. Mitochondrial communication in the context of aging [J]. *Aging Clin Exp Res*, 2021, 33(5): 1367-1370.
- [25] ZGLINICKI T V, PILGER R, SITTE N. Accumulation of single-strand breaks is the major cause of telomere shortening in human fibroblasts [J].

- Free Radic Biol Med, 2000, 28(1):64-74.
- [26] PASSOS J F, SARETZKI G, AHMED S, et al. Mitochondrial dysfunction accounts for the stochastic heterogeneity in telomere-dependent senescence [J]. PLoS Biol, 2007, doi: 10.1371/journal.pbio.0050110.
- [27] PASSOS J F, NELSON G, WANG C, et al. Feedback between p21 and reactive oxygen production is necessary for cell senescence [J]. Mol Syst Biol, 2010, doi: 10.1038/msb.2010.5.
- [28] PATRIZIA D A, DINA B, GIUSEPPE P. Mitochondria in health, aging and diseases: The epigenetic perspective [J]. Biogerontology, 2015, 16(5):569-585.
- [29] VERMULST M, BIELAS J H, KUJOTH G C, et al. Mitochondrial point mutations do not limit the natural lifespan of mice [J]. Nat Genet, 2007, 39(4):540-543.
- [30] VAN DEURSEN J M. The role of senescent cells in ageing [J]. Nature, 2014, 509(7501):439-446.
- [31] LAWLESS C, JURK D, GILLESPIE C S, et al. A stochastic step model of replicative senescence explains ROS production rate in ageing cell populations [J]. PLoS One, 2012, 7(2):e32117.
- [32] AHMED E K, ROGOWSKA-WRZESINSKA A, ROEPSTORFF P, et al. Protein modification and replicative senescence of WI-38 human embryonic fibroblasts [J]. Aging Cell, 2010, 9(2):252-272.
- [33] LAURI A, POMPILIO G, CAPOGROSSI M C. The mitochondrial genome in aging and senescence [J]. Aging Res Rev, 2014, doi: 10.1016/j.arr.2014.07.001.
- [34] 聂欢欢, 邱坚发, 张学艳, 等. 线粒体自噬进程及其受病毒感染的影响 [J]. 病毒学报, 2021, 37(3):748-754.
- [35] XIAN H, YANG Q, XIAO L, et al. STX17 dynamically regulated by Fis1 induces mitophagy via hierarchical macroautophagic mechanism [J]. Nat Commun, 2019, 10(1):2059.
- [36] WEI H F, LIU L, CHEN Q. Selective removal of mitochondria via mitophagy: Distinct pathways for different mitochondrial stresses [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1853(10):2784-2790.
- [37] 李旭卉, 吴习习, 张凯, 等. 线粒体自噬与癌症关系的研究进展 [J]. 动物医学进展, 2017, 38(9):109-114.
- [38] DALLE PEZZE P, NELSON G, OTTEN E G, et al. Dynamic modelling of pathways to cellular senescence reveals strategies for targeted interventions [J]. PLoS Comput Biol, 2014, 10(8):e1003728.
- [39] KOROLCHUK V I, MIWA S, CARROLL B, et al. Mitochondria in cell senescence: Is mitophagy the weakest link? [J]. Ebiomedicine, 2017, doi: 10.1016/j.ebiom.2017.03.020.
- [40] KANG C, XU Q, MARTIN T D, et al. The DNA damage response induces inflammation and senescence by inhibiting autophagy of GATA4 [J]. Science, 2015, doi: 10.1126/science.aaa5612.
- [41] KURIHARA Y, KANKI T, AOKI Y, et al. Mitophagy plays an essential role in reducing mitochondrial production of reactive oxygen species and mutation of mitochondrial DNA by maintaining mitochondrial quantity and quality in yeast [J]. J Biol Chem, 2012, 287(5):3265-3272.
- [42] KARAVAEVA I E, GOLYSHEV S A, SMIRNOVA E A, et al. Mitochondrial depolarization in yeast zygotes inhibits clonal expansion of selfish mtDNA [J]. J Cell Sci, 2017, 130(7):1274-1284.
- [43] KENNEDY B K, LAMMING D W. The mechanistic target of rapamycin: The grand conductor of metabolism and aging [J]. Cell Metab, 2016, 23(6):990-1003.
- [44] TAI H, WANG Z, GONG H, et al. Autophagy impairment with lysosomal and mitochondrial dysfunction is an important characteristic of oxidative stress-induced senescence [J]. Autophagy, 2017, 13(1):99-113.
- [45] SHARMA R, RAMANATHAN A. The aging metabolome-biomarkers to hub metabolites [J]. Proteomics, 2020, 20(5/6):e1800407.
- [46] 陈誉华, 陈志南. 医学细胞生物学 [M]. 6版. 北京: 人民卫生出版社, 2018.
- [47] MOUCHIROUD L, HOUTKOOPER R H, MOULLAN N, et al. The NAD(+)/sirtuin pathway modulates longevity through activation of mitochondrial UPR and FoxO signaling [J]. Cell, 2013, 154(2):430-441.
- [48] LEE S M, DHO S H, JU S K, et al. Cytosolic malate dehydrogenase regulates senescence in human fibroblasts [J]. Biogerontology, 2012, 13(5):525-536.
- [49] HAIGIS M C, SINCLAIR D A. Mammalian sirtuins: Biological insights and disease relevance [J]. Annu Rev Pathol, 2010, 5(1):253-295.
- [50] YUAN Y, CRUZAT V F, NEWSHOME P, et al. Regulation of SIRT1 in aging: Roles in mitochondrial function and biogenesis [J]. Mech Ageing Dev, 2016,

- doi: 10.1016/j.mad.2016.02.003.
- [51] GOMES A, PRICE N, LING A Y, et al. Declining NAD(+) induces a pseudohypoxic state disrupting nuclear-mitochondrial communication during aging [J]. *Cell*, 2013, 155(7):1624-1638.
- [52] EFIMOVA E V, MAUCERI H J, GOLDEN D W, et al. Poly (ADP-Ribose) polymerase inhibitor induces accelerated senescence in irradiated breast cancer cells and tumors [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(15): 6277-6282.
- [53] WEN Y, XU L, CHEN F L, et al. Discovery of a novel inhibitor of NAD(P)(+)-dependent malic enzyme (ME2) by high-throughput screening [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014; 35(5):674-684.
- [54] JIANG P, DU W, MANCUSO A, et al. Reciprocal regulation of p53 and malic enzymes modulates metabolism and senescence [J]. *Nature*, 2013, 493(7434):689-693.
- [55] SUN N, YOULE R J, FINKEL T. The mitochondrial basis of aging [J]. *Mol Cell*, 2016, 61(5):654-666.
- [56] KAPLON J, ZHENG L, MEISSL K, et al. A key role for mitochondrial gatekeeper pyruvate dehydrogenase in oncogene-induced senescence [J]. *Nature*, 2013, 498(7452):109-112.
- [57] CHEN J, SU W, KANG B, et al. Supplementation with α -ketoglutarate to a low-protein diet enhances amino acid synthesis in tissues and improves protein metabolism in the skeletal muscle of growing pigs [J]. *Amino Acids*, 2018, 50(11):1525-1537.
- [58] CHIN R M, FU X, PAI M Y, et al. The metabolite α -ketoglutarate extends lifespan by inhibiting ATP synthase and TOR [J]. *Nature*, 2014, 510(7505): 397-401.
- [59] SU Y, WANG T, WU N, et al. Alpha-ketoglutarate extends drosophila lifespan by inhibiting mTOR and activating AMPK [J]. *Ageing*, 2019, 11(12): 4183-4197.
- [60] BARACCO E E, CASTOLDI F, DURAND S, et al. α -Ketoglutarate inhibits autophagy [J]. *Ageing*, 2019, 11(11):3418-3431.
- [61] ASADI S A, EDGAR D, LIAO C Y, et al. Alpha-ketoglutarate, an endogenous metabolite, extends lifespan and compresses morbidity in aging mice [J]. *Cell Metab*, 2020, 32(3):447-456.
- [62] BAYLIAK M M, LUSHCHAK V I. Pleiotropic effects of alpha-ketoglutarate as a potential anti-ageing agent [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, doi: 10.1016/j.arr.2020.101237.
- [63] GENDA E N, JACKSON J G, SHELDON A L, et al. Co-compartmentalization of the astroglial glutamate transporter, GLT-1, with glycolytic enzymes and mitochondria [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(50): 18275-18288.
- [64] HARRISON A P, PIERZYNOWSKI S G. Biological effects of 2-oxoglutarate with particular emphasis on the regulation of protein, mineral and lipid absorption/metabolism, muscle performance, kidney function, bone formation and cancerogenesis, all viewed from a healthy ageing perspective state of the art-review article [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2008, 59(1):91-106.
- [65] TATARKOVÁ Z, KUKA S, RAAJ P, et al. Effects of aging on activities of mitochondrial electron transport chain complexes and oxidative damage in rat heart [J]. *Physiol Res*, 2011, 60(2):281-289.
- [66] LESNEFSKY E J, CHEN Q, HOPPEL C L. Mitochondrial metabolism in aging heart [J]. *Circ Res*, 2016; 118(10):1593-1611.
- [67] BOENGLER K, KOSIOL M, MAYR M, et al. Mitochondria and ageing: Role in heart, skeletal muscle and adipose tissue [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2017, 8(3):349-369.
- [68] WILEY C D, VELARDE M C, LECOT P, et al. Mitochondrial dysfunction induces senescence with a distinct secretory phenotype [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(2):303-314.
- [69] FLEURY H, MALAQUIN N, TU V, et al. Exploiting interconnected synthetic lethal interactions between PARP inhibition and cancer cell reversible senescence [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):2556.
- [70] HSIEH J Y, LI S Y, TSAI W C, et al. A smallmolecule inhibitor suppresses the tumor-associated mitochondrial NAD(P)(+)-dependent malic enzyme (ME2) and induces cellular senescence [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(24):20084-20098.
- [71] KLEIN M A, DENU J M. Biological and catalytic functions of sirtuin 6 as targets for small-molecule modulators [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(32):11021-11041.
- [72] ZOROVA L D, POPKOV V A, PLOTNIKOV E Y, et al. Mitochondrial membrane potential [J]. *Anal Biochem*, 2018, doi: 10.1016/j.ab.2017.07.009.
- [73] 赵海梅, 杨斌, 成蓓. 衰老血管内皮细胞线粒体膜电位与活性氧的变化 [J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(15):2729-2734.
- [74] YANG Z, WEI M L, DONG X Y. Effects of Yu Linzhu on ovarian function and oocyte mitochondria in

- natural aging mice[J]. *Aging*, 2021, 13(19):23328-23337.
- [75] LI S, CONG C, LIU Y, et al. Tiao Geng decoction for treating menopausal syndrome exhibits anti-aging effects likely via suppressing ASK1/MKK7/JNK mediated apoptosis in ovariectomized rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, doi: 10.1016/j.jep.2020.113061.
- [76] WANG X, ZHANG J Q, XIU C K, et al. Ginseng-Sanqi-Chuanxiong (GSC) extracts ameliorate diabetes-induced endothelial cell senescence through regulating mitophagy via the AMPK pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, doi: 10.1155/2020/7151946.
- [77] CHEN J, WANG Y, HUI C, et al. Mechanisms of Heshouwuyin in regulating apoptosis of testicular cells in aging rats through mitochondrial pathway[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, doi: 10.1186/s12906-016-1323-6.
- [78] SONG C, ZHANG Y, CHENG L, et al. Effects of resveratrol combined with soy isoflavones on apoptosis induced by oxidative stress in hippocampus of aging model rats[J]. *J Hygi Res*, 2020, 49(6):932-937.
- [79] PYO I S, YUN S, YOON Y E, et al. Mechanisms of aging and the preventive effects of resveratrol on age-related diseases[J]. *Molecules*, 2020, 25(20):4649.
- [80] SUGIYAMA M, KAWAHARA-MIKI R, KAWANA H, et al. Resveratrol-induced mitochondrial synthesis and autophagy in oocytes derived from early antral follicles of aged cows [J]. *J Reprod Dev*, 2015, 61(4):251-259.
- [81] REN X, CHEN L, XIE J, et al. Resveratrol ameliorates mitochondrial elongation via Drp1/Parkin/PINK1 signaling in senescent-like cardiomyocytes[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, doi: 10.1155/2017/4175353.
- [82] CAO Y, ZHAO H, WANG Z, et al. Quercetin promotes *in vitro* maturation of oocytes from humans and aged mice [J]. *Cell Death Dis*, 2020, doi: 10.1038/s41419-020-03183-5.
- [83] 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[J]. *Life Sci*, 2020, doi: 10.1016/j.lfs.2020.118116.
- [84] NAIA L, PINHO C M, DENTONI G, et al. Neuronal cell-based high-throughput screen for enhancers of mitochondrial function reveals luteolin as a modulator of mitochondria-endoplasmic reticulum coupling [J]. *BMC Biol*, 2021, 19(1):57.
- [85] STEFANATOS R, SANZ A. The role of mitochondrial ROS in the aging brain[J]. *FEBS Lett*, 2018, 592(5):743-758.
- [86] SAHA S, MAHAPATRA K K, MISHRA S R, et al. Bacopa monnieri inhibits apoptosis and senescence through mitophagy in human astrocytes [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, doi: 10.1016/j.fct.2020.111367.
- [87] XIA M L, XIE X H, DING J H, et al. Astragaloside IV inhibits astrocyte senescence: Implication in Parkinson's disease[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, doi: 10.1186/s12974-020-01791-8.
- [88] HOU J, YUN Y, XUE J, et al. Doxorubicin-induced normal breast epithelial cellular aging and its related breast cancer growth through mitochondrial autophagy and oxidative stress mitigated by ginsenoside Rh₂[J]. *Phytother Res*, 2020, 34(7):1659-1669.
- [89] ZHOU Y, WANG Y P, HE Y H, et al. Ginsenoside Rg1 performs anti-aging functions by suppressing mitochondrial pathway-mediated apoptosis and activating sirtuin 3 (SIRT3)/superoxide dismutase 2 (SOD2) pathway in Sca-1⁺ HSC/HPC cells of an aging rat model [J]. *Med Sci Monit*, 2020, doi: 10.12659/MSM.920666.
- [90] GAO J M, LI R, ZHANG L, et al. Cuscuta chinensis seeds water extraction protecting murine osteoblastic MC3T3-E1 cells against tertiary butyl hydroperoxide induced injury[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(2):587-595.
- [91] QI B, JI Q, WEN Y, et al. Lycium barbarum polysaccharides protect human lens epithelial cells against oxidative stress-induced apoptosis and senescence [J]. *PLoS One*, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0110275.
- [92] MA J, KANG S Y, MENG X, et al. Effects of rhizome extract of dioscorea batatas and its active compound, allantoin, on the regulation of myoblast differentiation and mitochondrial biogenesis in C2C12 myotubes[J]. *Molecules*, 2018, 23(8):2023.
- [93] MAO G X, XU X G, WANG S Y, et al. Salidroside delays cellular senescence by stimulating mitochondrial biogenesis partly through a miR-22/SIRT-1 pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, doi: 10.1155/2019/5276096.
- [94] PARK C, CHOI E O, KIM G Y, et al. Protective effect of baicalein on oxidative stress-induced DNA damage and apoptosis in RT4-D6P2T schwann cells

- [J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16(1):8-16.
- [95] ANDREUX P A, BLANCO-BOSE W, RYU D, et al. The mitophagy activator urolithin A is safe and induces a molecular signature of improved mitochondrial and cellular health in humans [J]. *Nat Metab*, 2019, 1(6):595-603.
- [96] RYU D, MOUCHIROUD L, ANDREUX P A, et al. Urolithin A induces mitophagy and prolongs lifespan in *C. elegans* and increases muscle function in rodents [J]. *Nat Med*, 2016, 22(8):879-888.
- [97] LUO L, SUN G J, DU Y J. Effect of "Kidney-reinforcing and Governor Vessel-regulating" of acupuncture plus moxibustion on mitochondrial dynamics-related proteins in hippocampal neurons of rats with Alzheimer's disease [J]. *Acupunct Res*, 2015, 40(4):270-274.
- [98] ZHOU X, CHEN H, WANG L, et al. Mitochondrial dynamics: A potential therapeutic target for ischemic stroke [J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, doi: 10.3389/fnagi.2021.721428.
- [99] HA L, YU M, YAN Z, et al. Effects of moxibustion and moxa smoke on behavior changes and energy metabolism in APP/PS1 mice [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019(1):1-10.
- [100] 于梦芸. 艾灸及艾烟对APP/PS1双转基因AD小鼠的尿液、血浆靶标代谢组学研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2017.
- [101] HE Q D, HUANG Y P, ZHU L B, et al. Difference of liver and kidney metabolic profiling in chronic atrophic gastritis rats between acupuncture and moxibustion treatment [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018(2):1-9.
- [102] HAO F, LIU L, SANG J J, et al. Effect of moxibustion on expression of autophagy related molecules in synovial tissues of rheumatoid arthritis rats [J]. *Acupunct Res*, 2020, 45(10):793-798.
- [103] LI Q, WANG W, MA Q, et al. Moxibustion improves chronic heart failure by inhibiting autophagy and inflammation via upregulation of mTOR expression [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021(5):1-12.
- [104] 杜艳军. 艾灸对老年大鼠海马线粒体凋亡及其基因调控的研究[D]. 武汉:湖北中医学院, 2005.
- [105] 金琪, 韩丽, 欧阳夏荔, 等. 艾灸关元穴对自然衰老大鼠肝脏组织中SIRT1、FoxO3a、PPAR α 表达的影响 [J]. *辽宁中医杂志*, 2020, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1128.R.20201113.1037.044.html>.
- [106] 王玉全, 李程程, 孟爱民, 等. 线粒体在细胞衰老中的作用 [J]. *医学综述*, 2019, 25(8):1457-1462.
- [107] LYKHMUS O, GERGALOVA G, ZOURIDAKIS M, et al. Inflammation decreases the level of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in the brain mitochondria and makes them more susceptible to apoptosis induction [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 29(1):148-151.
- [108] ZHANG N, ZHANG Q, XIE L, et al. Electroacupuncture and moxibustion regulate hippocampus glia and mitochondria activation in DSS-induced colitis mice [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020(87):1-11.
- [109] HA L, YANG B, WANG S, et al. Effect of moxibustion on behavioral changes and expression of APP and BACE1 in hippocampus of SAMP8 mice [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020(1):1-11.

[责任编辑 张丰丰]