



线粒体DNA修复与运动应激的研究进展与展望

张喆^{1,2}, 丁树哲^{1,2*}

(1. 华东师范大学“青少年健康评价与运动干预”教育部重点实验室, 上海 200241;

2. 华东师范大学体育与健康学院, 上海 200241)

摘要: 由于线粒体功能的特殊性, 线粒体DNA(mtDNA)比细胞核DNA(nDNA)更易受损, 若修复不当且持续累积, 可导致线粒体功能障碍。因此, mtDNA修复是线粒体质量控制中不可或缺的环节。通过对mtDNA修复的最新研究动态进行归纳, 提出线粒体DNA聚合酶 γ (POLG)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺/NADH)-NAD⁺依赖性组蛋白去乙酰化酶(SIRT)、8-氧鸟嘌呤DNA糖基化酶(OGG1)和P53等是介导mtDNA修复的关键分子; 运动可通过Sirt3-OGG1和P53调控经典碱基切除修复(BER)途径, 从而促进mtDNA修复。进一步探讨了运动应激对mtDNA修复的可能调节机制及mtDNA修复相关分子介导运动适应的途径, 以期对运动康复的潜在靶点价值和运动适应与线粒体质量控制的基础研究提供新的理论思考。

关键词: 线粒体DNA修复; 线粒体质量控制; 运动

中图分类号: G804.7 **文献标识码:** A

线粒体是细胞内重要的“能量工厂”, 其通过多种信号传导途径与细胞的其余部分进行信号传递, 以应对生理刺激、应激和生物事件引起的功能障碍(Chandel, 2014; Goldenthal et al., 2004; Tait et al., 2012)。因此, 线粒体质量对于维持细胞稳态、机体健康(Stewart et al., 2015; Van Houten et al., 2016; Zong et al., 2016)以及促进运动适应(戈哲等, 2019; 张喆等, 2015; Safdar et al., 2016)有重要作用。哺乳动物细胞内的线粒体呈网络化分布, 且始终处于动态变化中, 需要通过线粒体质量控制(mitochondrial quality control, MQC)维持线粒体网络的动态平衡。线粒体质量控制包括线粒体生物发生、线粒体蛋白输入机制(protein import machinery, PIM)、线粒体修复机制、线粒体动态变化(融合与分裂)以及线粒体自噬。对于线粒体生物发生、线粒体PIM、线粒体动态变化和线粒体自噬的研究启动较早, 相关的机制阐述得较为清晰, 而关于线粒体修复机制的研究相对较少。从广义上来说, 线粒体动态变化和线粒体自噬亦是线粒体相关的修复途径(Saki et al., 2017); 从狭义上来说, 随着研究的深入, 学者们陆续揭示了不同于线粒体自噬和线粒体动态变化的更精确的线粒体修复机制, 其中, 线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)的损伤与修复途径是近年来关注度较高、阐述相对清晰的机制, 其在线粒体质量以及细胞稳态中发挥了重要作用。

相关研究现已明确了mtDNA的多条修复途径以及关键分子, 且已有诸多直接/间接证据表明运动可通过一系列途径调控mtDNA的完整性和稳定性, 从而维持线粒体功能, 促进机体健康。因此, 本文拟基于目前对mtDNA修复途径的理解作一综述, 并重点梳理介导线粒体DNA修复的若干重要传感器和关键靶分子, 整合并展望运动调控mtDNA损伤与修复的研究进展, 期望为线粒体质量控制在运动促进健康领域的基础研究提供新的思路。

1 mtDNA的损伤与修复

1.1 概述

线粒体蛋白的合成受细胞核基因(nDNA)和线粒体基因(mtDNA)的双重调控。大部分线粒体蛋白需由nDNA编码, 随后在细胞质中经历转录、翻译、修饰等过

收稿日期: 2021-01-12; 修订日期: 2021-04-28

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(32000836); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2018ECNU-HLYT048); 华东师范大学青少年健康评价与运动干预教育部重点实验室建设项目(40500-541235-14203)。

第一作者简介: 张喆(1986-), 女, 讲师, 博士, 主要研究方向为运动适应与线粒体质量控制, E-mail: zhangzhe@tyxx.ecnu.edu.cn。

*通信作者简介: 丁树哲(1963-), 男, 教授, 博士, 博士研究生导师, 主要研究方向为运动适应与线粒体质量控制, E-mail: szding@tyxx.ecnu.edu.cn。

程,再通过存在于线粒体膜上的蛋白输入机制(PIM)进入线粒体,从而行使其特定职能(张喆等,2015;Takahashi et al.,1996);另一部分线粒体蛋白则由mtDNA独立编码合成,并在线粒体质量控制中发挥着重要作用。哺乳动物线粒体DNA遗传自母体,呈环状,大约16.5 kb,其可编码13种多肽、22种转运RNA(transfer RNA, tRNA)和2种核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA),它们通过电子传递链/呼吸链(electron transport chain, ETC)参与氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)过程(Anderson et al., 1981)。不同于包装成核小体的核DNA,mtDNA与线粒体基质紧密结合,并形成类核样的紧密结构(Gilkerson et al., 2013)。类核由mtDNA-蛋白质复合物组成,其中包括参与复制和转录的蛋白质,如线粒体单链结合蛋白(mitochondrial single-stranded binding protein, mtSSB)、线粒体DNA聚合酶 γ (mitochondrial DNA polymerase γ , POLG)和线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM)(Spelbrink, 2010)。

正如nDNA一样,mtDNA亦容易受到外源性物质(如暴露于化学治疗药物)和一些内源性因素[如DNA复制错误,DNA自身的不稳定性和线粒体呼吸链产生ATP的副产物活性氧(reactive oxygen species, ROS)]的影响,进而导致损伤(Yakes et al., 1997)。线粒体是细胞内生成能量的主要场所,但由于OXPHOS生成ATP的同时会产生ROS,因此,mtDNA发生氧化损伤的频率比nDNA高10~20倍(Richter et al., 1988)。线粒体DNA受损后若修复不当,累积的DNA损伤会引起线粒体功能障碍,进而引发病理性改变。研究发现,线粒体能够通过类似于细胞核中的DNA修复机制来抵御mtDNA损伤,但mtDNA与nDNA修复途径之间既存在共性,又存在特性(Gilkerson et al., 2013)。

在目前报道的DNA修复途径中,碱基切除修复(base excision repair, BER)、直接逆转(direct reversal, DR)、错配修复(mismatch repair, MMR)、跨损伤修复合成(translesion synthesis, TLS)以及双链断裂修复(double-strand break repair, DSBR)是描述得比较全面的修复途径(Alexeyev et al., 2013; Cline 2012; Kazak et al., 2012; Larsen et al., 2005)。这些途径在细胞核中的修复机制已经得到广泛研究(Fang et al., 2016; Kalousi et al., 2016),但在线粒体中的相关研究尚待完善,其中BER途径已被认为是减少线粒体DNA氧化性损伤的主要修复途径(Boesch et al., 2011; Saki et al., 2017)。

1.2 BER修复途径

碱基切除修复(BER)是指单碱基丢失,碱基被破坏或单链断裂后的一种高度保守的DNA修复途径(Klungland et al., 1999; Lindahl et al., 1999; Megna et al., 2017)。BER是一个特征明确、紧密协调的过程,包括识别和切除

受损的DNA碱基、去除无碱基(嘌呤或嘧啶)位点、末端处理、缺口填充和连接(Alexeyev et al., 2013; Kazak et al., 2012; Prakash et al., 2015; Saki et al., 2017)。

BER的起始步骤是由DNA糖基化酶介导的,该酶识别受损的碱基并催化受损碱基与2'-脱氧核糖之间的N-糖苷键断裂,形成去嘌呤或去嘧啶位点(统称为AP位点)(Jacobs et al., 2012),再进行后续的修复步骤。DNA糖基化酶可分为单功能酶和双功能酶,两者的区别在于DNA糖基化酶是否具有内在的裂解酶活性。单功能糖基化酶可切除非氧化性受损碱基,并依靠脱嘌呤嘧啶核酸内切酶(AP endonuclease, APE1)完成裂解酶反应;双功能糖基化酶则参与去除氧化的DNA碱基并在损伤部位3'处形成DNA主链(Hegde et al., 2008; Izumi et al., 2005)。目前,参与BER途径的2种关键酶——APE1和多核苷酸激酶磷酸酶(polynucleotide kinase 3'-phosphatase, PNKP)均在线粒体中被鉴定(Mandal et al., 2012; Tahbaz et al., 2012),其中,APE1是一种具有DNA修复与氧化还原双功能的蛋白。另外,线粒体DNA聚合酶 γ (POLG)是主要的线粒体聚合酶,负责mtDNA中的缺口填充与合成步骤(Bogenhagen et al., 2001; Graziewicz et al., 2006),其3'→5'的外切酶活性对于mtDNA的复制和修复是必不可少的(Copeland, 2008)。

对应DNA的损伤情况,BER可以通过3个子路径进行修复:1)短补丁修复[short patch-BER, SP-BER,1个碱基(1-nt)];2)长补丁修复[long patch-BER, LP-BER,2个以上碱基(>2-nt)];3)单链断裂修复(single-stranded break repair, SSBR)(Graziewicz et al., 2006; Guerra et al., 2010)。已知细胞核中的SSBR途径是由多聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]检测到SSB从而触发的,研究也已证实PARP1定位于线粒体(David et al., 2007; Krokan et al., 2013),因此,PARP1很可能是nDNA与mtDNA修复的共通节点。

1.3 其他mtDNA修复途径

直接逆转(DR)途径是相对简单的一步修复途径,其负责修复诸如环丁烷嘧啶二聚体和O6-烷基鸟嘌呤的损伤。在细菌中,由光解酶负责去除环丁烷嘧啶二聚体,尽管该酶已在植物和酵母的线粒体中被鉴定,但尚未在哺乳动物线粒体内发现光解酶同源物的证据(Takahashi et al., 2011; Yasui et al., 1994)。

错配修复(MMR)途径则是高度保守的修复过程,包含识别和去除配对错误的碱基以及复制过程中由DNA聚合酶引起的“链滑”(slippage errors)错误(Ijsselsteijn et al., 2020; Li, 2008)。与细胞核内MMR修复主要依赖于MutS同系物基因不同,线粒体内MMR修复主要依赖于Y-box结合蛋白(YB-1)(De Souza-Pinto et al., 2009; Lyabin et al., 2014)。

跨损伤修复合成(TLS)是一种促使DNA对损伤产生一定程度耐受的修复方式,它利用一组特殊的DNA聚合酶绕过DNA损伤并允许DNA复制继续进行(Sale, 2013)。在线粒体中,POLG表现出了TLS活性,并且能够通过合并与损伤相对的嘌呤来绕过损伤处(如环丁烷嘧啶二聚体)(Kasiviswanathan et al., 2012)。因此,POLG是线粒体BER和TLS途径中的共通关键物质。

双链断裂修复(DSBR)是指DNA中发生的DNA双链断裂(double-strand break, DSBs)可通过同源重组(homologous recombination, HR),微同源介导的末端连接(microhomology mediated end-joining, MMEJ)和非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)来修复的一种途径(Lieber, 2010)。关于mtDNA修复的DSBR通路研究率先在植物和酵母细胞中展开,但目前哺乳动物mtDNA的DSBR修复途径仍需进一步进行全面揭示(Saki et al., 2017)。

2 介导线粒体DNA修复的关键分子

随着研究的不断深入,学者们陆续梳理出mtDNA修复中涉及的关键传感器和重要分子,除了上述提及的APE1、POLG、PARP等分子外,还主要涉及烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide-adenine dinucleotide, NAD^+)/烟酰胺腺嘌呤二核苷酸还原态(reduced form of nicotinamide-adenine dinucleotide, NADH)相关的信号通路、DNA聚合酶 β (pol β)、P53等,以下将一一阐述。

2.1 NAD^+ /NADH涉及的信号通路

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)可呈氧化态(NAD^+ , 电子受体)和还原态(NADH, 电子供体),是参与糖酵解、ETC和三羧酸(TCA)循环的重要代谢产物和辅酶(Canto et al., 2015; Ying, 2008),因此,NAD作为细胞内诸多应答反应的重要信号分子,近年来被广泛研究。 NAD^+ 是在mtDNA修复中发挥关键作用的PARP家族和 NAD^+ 依赖性组蛋白去乙酰化酶家族(sirtuin, SIRT)这两个酶家族的重要底物(Osborne et al., 2016)。PARP酶家族共有17个成员,目前已明确PARP 1~3在mtDNA的修复中发挥作用,其中PARP1定位于线粒体,较多研究认为,PARP1与PARP2共同参与BER途径,而PARP3则在探测到DNA双链断裂(DSB)时参与DSBR途径(Boehler et al., 2011; Fouquerel et al., 2014; Talhaoui et al., 2016)。但Szczyzny等(2014)认为,PARP1在线粒体中可与POLG相互作用并抑制BER途径,其功能与其在细胞核中的作用相反。可见,对于PARP1在线粒体中的功能尚存争议(Rossi et al., 2009),因此,进一步明确PPAR1在mtDNA修复中的功能很有必要。

2.1.1 Sirt1

去乙酰化酶(sirtuin)家族的蛋白利用 NAD^+ 作为底

物,通过去除赖氨酸残基上的乙酰基使蛋白质脱乙酰化(Michishita et al., 2005)。在7个去乙酰化酶家族成员中,Sirt1、Sirt6和Sirt7位于细胞核,Sirt2主要位于细胞质,而Sirt3、Sirt4和Sirt5则位于线粒体(Michishita et al., 2005; Osborne et al., 2016)。尽管有这样的物理性分隔,Sirtuin仍可以对细胞应激产生应答并在细胞核、线粒体和细胞质之间穿梭。Sirt1和Sirt3是被研究得较多的去乙酰化酶,而Sirt1可使诸如过氧化物酶体增殖物激活的受体- γ 共激活因子1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ co-activator 1 α , PGC-1 α)等关键蛋白去乙酰化,在线粒体生物发生中发挥重要作用。Sirt1同时也通过去乙酰化作用激活通路相关分子介导DSBR途径(Cohen et al., 2004)。由于PARP1和Sirt1均参与DNA修复,并利用 NAD^+ 作为各自催化的底物,因此,PARP1和Sirt1之间是否存在对于 NAD^+ 的竞争性以及如何竞争等问题尚不清楚。此外,PARP1涉及的是mtDNA修复的BER途径,而Sirt1参与的是DSBR通路,故而厘清PARP和Sirtuin家族蛋白对于 NAD^+ 的具体竞争作用有利于深入研究 NAD^+ -Sirt1/PARP1参与mtDNA修复的具体机制。

2.1.2 Sirt3-OGG1

Sirt3位于线粒体,是线粒体主要的 NAD^+ 依赖的去乙酰化酶,其将多种线粒体蛋白作为靶分子,对其进行赖氨酸脱乙酰化,从而参与维持线粒体质量和细胞稳态。8-氧桥鸟嘌呤DNA糖基化酶(8-oxoguanine DNA glycosylase, OGG1)是一种可从受损基因组切除8-氧桥鸟嘌呤脱氧核苷(8-oxoguanine, 8-oxoG)的DNA修复酶,而8-oxoG是mtDNA氧化损伤中出现频率最高的表现。现已明确OGG1是Sirt3的靶分子。Sirt3可与OGG1物理性关联并对该DNA糖基化酶去乙酰化,进而阻止OGG1的降解并控制其切割活性(Cheng et al., 2013)。Liu等(2017)的研究指出,与Sirt1类似,Sirt3亦可通过去乙酰化PGC-1 α 来促进线粒体生物发生,同时使OGG1去乙酰化来协调DNA修复,进而上调ROS清除率来保护细胞免于氧化应激损伤,维持mtDNA完整性,改善线粒体功能。因此,Sirt3-OGG1在修复mtDNA氧化损伤中发挥重要作用。

2.2 其他参与mtDNA修复的重要分子

除了以上阐述的mtDNA修复途径中的关键分子外,较新的研究还指出了其他若干重要分子亦在mtDNA修复中发挥重要作用。1)初级损伤修复酶DNA聚合酶 β (pol β)在线粒体的定位已被确认,其与poly相互作用,在mtDNA的BER修复中发挥关键作用(Prasad et al., 2017)。2)线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM)对DNA氧化损伤中形成频率最高的8-oxoG具有较大的亲和力,并抑制OGG1、尿嘧啶DNA糖基化酶(uracil DNA glycosylase, UNG)和脱嘌呤嘧啶核酸内切酶(APE1)的活性(Canugovi et al., 2010; Saki et al., 2017),

而 APE1 和 UNG 均是 BER 修复途径的关键酶。3) 肿瘤抑制因子 P53 能够与 TFAM 结合并改变其与 DNA 的结合, 从而抵消 TFAM 对 BER 途径中 UNG、APE1 和 OGG1 的抑制作用, 促进 mtDNA 的 BER 途径(张媛等, 2011; Wong et al., 2009)。新近的研究表明, 与 POLG 类似, P53 同样具有 3'→5' 的外切酶活性(Safdar et al., 2016)。细胞在对内、外应激和损伤(如 ROS)产生应答时, P53 会转位至线粒体与 mtDNA 和 POLG 相互作用, 通过 BER 修复受损的 mtDNA, 促进和维持线粒体基因组的稳定性(Achanta et al., 2005)。4) 线粒体中钙离子(Ca²⁺)水平的波动会导致 NADH 从线粒体外流至细胞质, 从而影响细胞质中 NAD⁺/NADH 的比例(Marcu et al., 2014)。该研究还证实了 Ca²⁺ 波动、NAD⁺ 水平、DNA 损伤和线粒体功能障碍之间存在密切联系(Marcu et al., 2014)。Jazwinski(2014)研

究亦发现, mtDNA 的丢失和损伤累积也会反向引起 Ca²⁺ 外流、NAD⁺ 水平变化、线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)下降等信号级联反应, 进而可能导致线粒体功能障碍; 而 mtDNA 的修复可逆转这些信号改变(Biswas et al., 2005)。因此, 检测不同细胞器 Ca²⁺ 和 NAD⁺ 水平变化可能是间接评估 mtDNA 损伤的重要指标。另一方面, 多种应激可引起 Ca²⁺ 的波动, 其中, 运动引起骨骼肌收缩即是最好的例子。我们完全有理由推测, 运动可通过引发 Ca²⁺ 水平和 NAD⁺/NADH 的比值变化, 进而调节 mtDNA 的修复并维持 mtDNA 的完整性。综上所述, 以上介绍的若干关键分子均直接参与了 mtDNA 的修复, 且大多与 NAD⁺/NADH 有关, 因此, NAD⁺/NADH 可能是 mtDNA 修复的核心枢纽之一(表 1)。

表 1 mtDNA 修复的关键分子
Table 1 Key Molecules of mtDNA Repair

分子名称	参与的 mtDNA 修复途径	功能	是否为 NAD ⁺ /NADH 相关
APE1	BER	脱嘌呤嘧啶核酸内切酶, 具有 DNA 修复与氧化还原双功能	否
POLG	BER, TLS	BER: DNA 聚合酶 γ , 是主要的线粒体聚合酶, 负责线粒体中的缺口填充合成步骤; TLS: 合并与损伤相对的嘌呤来绕过损伤处	否
PARP1、PARP2	BER	共同参与 BER, 但 PARP1 在线粒体的功能尚存争议	是
Sirt3	BER	对 OGG1 去乙酰化从而协调 mtDNA 的修复	是
pol β	BER	与线粒体 pol γ 共同参与 BER	否
OGG1	BER	8-氧桥鸟嘌呤 DNA 糖基化酶, 切除 mtDNA 中氧化性损伤发生频率最高的 8-oxoG	否
TFAM	BER	抑制 OGG1, APE1 和 UNG	否
P53	BER	与 TFAM 结合, 抵消 TFAM 对 BER 的抑制作用	否
YB-1	MMR	结合错配处并修复	否
PARP3	DSBR	探测 DNA 双链断裂(DSB)	是
Sirt1	DSBR	去乙酰化相关靶分子, 介导 DSBR	是
Ca ²⁺	BER, DSBR	影响 NAD ⁺ /NADH 比例和 mtDNA 损伤	是

3 运动与 mtDNA 修复

3.1 不同运动方式与 mtDNA

研究证实, 体育运动的长期益处是针对多系统的(肌肉、神经、血管、内分泌和免疫系统), 并最终降低全因死亡率和延长寿命(平均预期寿命延长约 3%~10%)(Lee et al., 2017; Reimers et al., 2012)。在诸多运动方式中, 有氧运动训练(aerobic exercise training, AET)被认为是改善所有年龄段线粒体生物发生、胰岛素敏感性和心肺适应性的黄金标杆。在老年人群中, AET 可通过增加 mtDNA 的拷贝数来促进 mtDNA 转录和蛋白质表达, 增强氧化酶功能, 提高 ATP 合成以及线粒体总体积的方式, 从而达到一定程度逆转线粒体功能障碍的目的(Broskey et al., 2014)。Short 等(2003)的研究表明, 无论年龄大小, AET 均可增强受试者骨骼肌线粒体生物发生的能力(如 PGC-1、NRF1 和 TFAM)、线粒体基因表达以及三羧酸循

环相关酶的活性。实际上, 已有研究指出, 进行 12 周中等强度 AET(50%~70% 最大摄氧量)可增加老年人体内线粒体的总含量(mtDNA 和心磷脂)、NADH 氧化酶和琥珀酸氧化酶的活性以及胰岛素抵抗的稳态模型评估(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)(Menshikova et al., 2006)。此外, AET 不仅增加了组织内整体 mtDNA 的数量, 还增加了单个线粒体内 DNA 的拷贝数量(Jacobs et al., 2013)。而 mtDNA 拷贝数的增加和稳定性的维持, 都离不开 mtDNA 的修复。

较早的研究认为, 抗阻运动(resistance exercise training, RET)对线粒体质量的影响较小(Menshikova et al., 2006), 但目前学界普遍认为力量训练同样可以增强线粒体的转录活性, 上调 NADH 氧化酶、琥珀酸氧化酶和抗氧化酶的活性, 并减少老年人骨骼肌的氧化损伤(Parise et al., 2005; Tarnopolsky, 2009; Tarnopolsky et al., 2007)。

有数据表明,RET诱导的线粒体益处是由卫星细胞激活介导的,卫星细胞与成熟的肌纤维融合并引入野生型mtDNA以“稀释”突变的mtDNA库(Radak et al., 2011)。Taivassalo等(1999)在线粒体疾病患者中进行了运动干预,首次提出了骨骼肌向心和离心收缩引起的肌肉超负荷和肌纤维微细损伤伴随着mtDNA的转移。随后,Tarnopolsky(2009)、Tarnopolsky等(2007)对这一概念进行了扩充,指出长期的RET减少了mtDNA的缺失,并增加了老年人的瘦体重、肌肉力量和功能。“稀释”突变的mtDNA库和减少mtDNA丢失可能均与mtDNA的修复途径有关,这可能为抗阻训练促进mtDNA修复提供了一定的佐证,但具体的机制仍有待探索。

当然,运动作为一种应激状态并不总是有益于mtDNA的修复与稳定的,已有若干研究为剧烈运动损伤mtDNA提供了直接证据。Poulsen等(1996)报道了男性受试者在进行大强度训练(10 h/d, 30天)后mtDNA的8-oxoG增加了30%,表明大强度运动上调了mtDNA的氧化性损伤和突变概率。Sakai等(1999)则观察到大鼠以40 m/min进行跑台运动20 min后,比目鱼肌的mtDNA出现了7 052 bp的缺失。然而,这一缺失并不是mtDNA最常见的4 834 bp的普遍缺失,说明急性大强度运动对mtDNA造成的损伤与其他应激对mtDNA的损伤效应有所不同(时庆德等, 2003)。

3.2 运动调控mtDNA修复的关键分子

3.2.1 NAD⁺/NADH-Sirtuin

去乙酰化酶(sirtuin)组成了一个进化保守的NAD依赖的组蛋白去乙酰化酶家族(Anastasiou et al., 2006; Dali-Youcef et al., 2007),其与线粒体能量稳态、抗氧化活性、增殖和DNA修复等生物学功能密切相关,而所有这些效应均需要与NAD结合(Saki et al., 2017)。研究已明确,运动对Sirtuin的活性和/或表达有积极影响,从而优化氧化代谢效率,上调线粒体生物发生,促进mtDNA修复,增强线粒体功能(Dali-Youcef et al., 2007)。目前在运动科学领域针对Sirtuin家族研究得较为透彻的是Sirt1和Sirt3,如2.1所述,Sirt1虽位于细胞核但在mtDNA的DSBR途径中发挥重要作用;而Sirt3则位于线粒体,主要通过去乙酰化OGG1来协调mtDNA的氧化损伤修复。

3.2.1.1 Sirt1

Bayod等(2012)对大鼠进行了为期36周的跑台运动干预,发现大鼠骨骼肌中Sirt1和PGC-1 α 的蛋白含量增加,抗氧化能力改善。而Guerra等(2010)和Radak等(2011)的研究结果则有所不同。Guerra等(2010)发现,人体在单次运动负荷(急性运动)后骨骼肌Sirt1的蛋白表达增加;而Radak等(2011)则发现,Sirt1 mRNA的水平保持不变。Guerra等(2010)在运动后恢复期120 min时可观察到骨骼肌Sirt1蛋白含量增加,但该现象在运动后30 min

时并未出现,这与Radak等(2011)在运动后即刻取材骨骼肌发现Sirt1 mRNA水平无变化相吻合,因此,运动后取材的时间点可能是关键。

与有氧运动干预相似的是,研究发现,高强度间歇运动(high intensity interval training, HIIT)会增加Sirt1的蛋白含量或活性以及PGC-1 α 的蛋白含量(Gurd et al., 2010; Little et al., 2010)。然而,有研究指出,尽管Sirt1的活性增加了,其蛋白含量并没有改变甚至是降低了,因此,Gurd等(2010)认为,酶的活性并不一定与其蛋白含量成正比。Gurd等(2010)发现,尽管Sirt1蛋白含量减少,但Sirt1活性仍会增加,这强烈暗示了Sirt1的组蛋白修饰效应会在训练过程中发生并持续较长时间。此外,以单次30 s的高强度运动,每次高强度运动之间休息4 min,共4个间歇的HIIT运动方式进行干预发现,受试者在运动后即刻骨骼肌腺苷酸活化蛋白激酶亚基 $\alpha 1/\alpha 2$ (adenosine monophosphated protein kinase, AMPK $\alpha 1/\alpha 2$)的磷酸化水平增加了,并在运动结束3 h后PGC-1 α mRNA的水平上调(Gibala et al., 2009)。表明,HIIT诱导的Sirt1/PGC-1 α 变化与AMPK激活之间存在联系。Guerra等(2010)的研究也显示,仅1次全速跑即可引起人体骨骼肌Thr172-AMPK α 的磷酸化,Sirt1蛋白表达亦增加,表明AMPK可以上调Sirt1的表达。已知Sirt1可对PGC-1 α 进行脱乙酰化(Gerhart-Hines et al., 2007),因此可以推测,HIIT可以通过AMPK-Sirt1-PGC-1 α 调节线粒体生物发生。虽然现已明确Sirt1介导了mtDNA的DSBR途径,然而遗憾的是,关于运动调控Sirt1的研究大多止步于运动促进线粒体生物发生和改善线粒体功能等,未涉及mtDNA的修复,因此,运动是否可以通过相关通路调节DSBR进而促进mtDNA的修复应纳入思考范畴。

3.2.1.2 Sirt3

Palacios等(2009)的报告指出,Sirt3在I型肌纤维(慢肌)中表达较多,小鼠骨骼肌Sirt3对6周的自主跑轮运动就会有动态应答,以协调下游分子的应答。他们发现,锻炼会增加小鼠骨骼肌Sirt3的蛋白水平,并增强cAMP反应元件(CREB)的磷酸化及PGC-1 α 和柠檬酸合酶的(citrate synthase, CS)活性。他们还证明了在Sirt3基因敲除的小鼠中,AMPK和CREB的磷酸化以及PGC-1 α 的转录水平下调。因此,该团队认为,这些关键的细胞分子可能是运动通过Sirt3调控生物信号的重要组成部分。与前文关于Sirt1的阐述不谋而合的是,Palacios等(2009)提出了一个调控模式——Sirt3通过AMPK和PGC-1 α (AMPK-PGC-1 α -Sirt3信号轴)对运动调控肌肉能量稳态变化作出动态应答,并指出Sirt3的动态变化可能可以作为人类健康和疾病的治疗靶点。Hokari等(2010)证实了在自主跑轮或跑台训练4周后,大鼠骨骼肌Sirt3含量增加,而在被固定并限制运动的比目鱼肌中,Sirt3的含量下调。综上,

AMPK在运动适应的细胞分子机制中的核心地位已无须赘述,而磷酸化的AMPK(p-AMPK)可反向磷酸化一系列分子进而参与细胞核-线粒体信号传导反应,包括Sirt1、PGC-1 α 和低氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factor 1, HIF-1 α)(Canto et al., 2011; Jager et al., 2007; Ruderman et al., 2010)。

Sirtuin不仅通过AMPK和PGC-1 α 调控线粒体能量稳态,还通过使锰超氧化物歧化酶(MnSOD)脱乙酰化来发挥抗氧化功能(Tao et al., 2010),而线粒体的抗氧化能力与mtDNA的氧化性损伤修复密切相关。Shi等(2018)的研究证实,Sirt3-MnSOD途径的抗氧化作用对于神经元的存活至关重要。他们发现,高脂饮食(HFD)通过修饰海马中MnSOD的乙酰化,增加氧化应激水平并破坏小鼠的认知功能。而有氧间歇运动可通过Sirt3-MnSOD途径的正向调节降低氧化应激水平,进而减弱了HFD小鼠的神经元凋亡并改善其认知功能。这些发现使Sirt3被定位为神经保护领域的新靶点。与神经元领域的研究不同的是,Brandauer等(2015)运用动物模型(野生型小鼠和敲除AMPK α 2激酶并进行AICAR给药的小鼠模型)进行研究并得出结论:AMPK和PGC-1 α 调节骨骼肌Sirt3和MnSOD的蛋白丰度以对运动训练产生应答。Johnson等(2015)亦指出,年轻受试者在运动干预后,骨骼肌的Sirt3和MnSOD蛋白含量增加了,不仅如此,年轻受试者骨骼肌内Sirt3的上游调节子烟酰胺磷酸核糖转移酶(Nicotinamide phosphor ribonuclease, NAMPT)(NAMPT可促进NAD⁺前体的生成)的蛋白表达亦增加了;另一方面,参加耐力训练的老年人骨骼肌内的Sirt3蛋白含量上调,且MnSOD和过氧化氢酶的酶活性均增加,虽然老年人骨骼肌的NAMPT蛋白含量没有随着训练而增加,但是长期运动(>4年)依然可上调该分子的活化状态。因此,Johnson等(2015)得出结论:耐力训练可以增加年轻人和老年人的骨骼肌线粒体的抗氧化能力,而这一切都是通过AMPK-Sirt3-MnSOD实现的。

3.2.1.3 运动通过Sirt3-OGG1调节mtDNA修复

由于线粒体功能的特殊性,mtDNA极易发生氧化性损伤,而Sirt3对OGG1的正向调控已被证实(Cheng et al., 2013),Sirt3可与OGG1相互作用修复mtDNA的氧化性损伤,因此,运动通过调控Sirt3-MnSOD途径增强神经元或骨骼肌的抗氧化能力和功能特性,势必与Sirt3-OGG1修复mtDNA的氧化损伤有关。与运动调控Sirt1的研究不同的是,已有诸多报道证实运动可通过Sirt3-OGG1促进mtDNA的BER途径,这无疑为运动调控mtDNA修复提供了直接证据。Nakamoto等(2007)发现,规律性跑台训练可提高衰老大鼠肝脏线粒体OGG1的蛋白含量及活性。Radak等(2009)的研究也显示,运动训练可促进定位于线粒体外膜的OGG1蛋白转位进入线粒体基质,并提高其对

8-oxodG的去除能力,说明规律性运动训练可通过上调线粒体OGG1进而修复mtDNA的氧化性损伤。薄海等(2014)报道,低氧复合运动可通过NAD⁺/NADH-Sirt3-OGG1-MnSOD降低ROS水平,抑制低氧诱导的mtDNA损伤,这可能是低氧复合运动增强骨骼肌线粒体低氧耐受能力的关键节点。有趣的是,Radak等(2019)研究表明,急性和规律性运动均可上调OGG1的活性。而与此不同的是,代志军等(2012)在对青年男性淋巴细胞的研究中发现,一次性力竭运动诱导高水平ROS的同时,还抑制了mtOGG1的表达,促使mtDNA发生氧化性损伤,导致淋巴细胞凋亡;长期耐力训练则增加了mtOGG1的表达,并抑制ROS生成,避免运动性淋巴细胞凋亡。因此,OGG1的活性与表达可能并不一定呈正比关系,且运动对OGG1的调控作用在不同组织或细胞内可能存在特异性。目前科学家们已明确,规律性运动可上调骨骼肌、肝脏和大脑内OGG1的活性(Wong et al., 2009),促进mtDNA的修复。

另一方面,NAD和NADH是细胞代谢中重要的辅酶,可为线粒体产生ATP提供氧化还原能力。在骨骼肌中,运动会改变NAD⁺/NADH的比值以及将NAD⁺作为重要底物的Sirtuin(White et al., 2012)。White等(2012)认为,运动过程中ATP需求的增加导致NAD⁺水平和NAD⁺/NADH比例增加,这为SIRT1和SIRT3提供了更多的底物。因此,AMPK-NAD⁺/NADH-Sirt3-OGG1很可能是将mtDNA修复、氧化还原状态变化和运动适应联系起来的重要信号轴,而Sirt3-OGG1是其中的关键。此外,目前关于运动调控NAD⁺/NADH-Sirt3-OGG1的研究大多集中于规律性有氧运动和低氧复合运动,该信号轴有待于衍生应用于其他运动方式调节mtDNA修复和氧化还原状态的研究中。

3.2.2 运动通过P53调节mtDNA修复

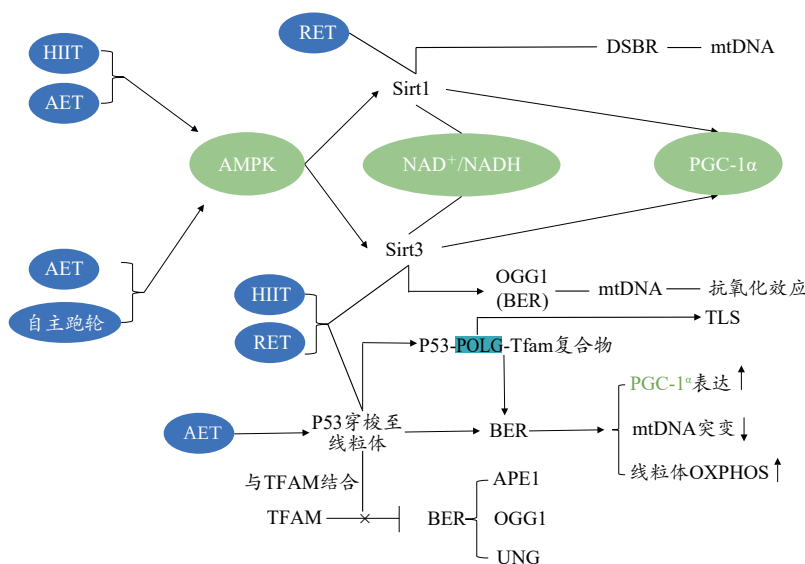
关于人类遗传疾病和转基因小鼠模型的研究已表明,线粒体DNA(mtDNA)突变和端粒功能障碍会导致衰老和诸多疾病。而在流行病学上,运动与更长的预期寿命和降低的慢性病风险有关。一直以来,线粒体DNA聚合酶 γ (POLG)被认为是主要的线粒体DNA聚合酶,其3'→5'的外切酶活性对于mtDNA的复制和修复是必不可少的(Copeland, 2008),丢失POLG可导致异常的mtDNA堆积。Safdar等(2016)以线粒体DNA聚合酶 γ (POLG)敲除的小鼠模型(Mutator mice)为研究对象,探讨有氧耐力运动能否缓解因丢失POLG而导致的一系列病理表现。该团队发现,耐力运动可通过不依赖于POLG的方式对受损mtDNA进行修复,缓解mtDNA的突变负担,减轻了多种病理现象,并延长了Mutator小鼠的寿命,这提出了一种有趣的可能性,即运动招募了一个独立于POLG的mtDNA修复通路。该研究结果无疑再一次为有氧运动促进mtDNA修复提供了直接证据。而与之相反的是,当Mutator小

鼠经历力竭运动时,线粒体应激导致了大量损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)的释放和线粒体质量的异常(Sliter et al., 2018)。上述分别从不同角度进行的研究证明了运动作为一种应激原,在不同情况下可诱导截然不同的效果。那么,我们是否可以推测有氧运动改善 Mutator 小鼠 mtDNA 修复的同时,也可以缓解异常的先天性免疫和线粒体质量? 有氧运动是如何在缺乏 POLG 的情况下促进 mtDNA 的修复? Safdar 等(2016)通过免疫共沉淀反应发现,线粒体 P53 可与 POLG 和 TFAM 在 mtDNA 处形成复合物,且对 Mutator 小鼠敲入 POLG 后(PolG mice)发现,P53-POLG-TFAM 复合物在运动组 PolG 小鼠中比安静组 PolG 小鼠和野生型小鼠中表达更高。以上现象与 Saleem 等(2013)的研究结果一致,该团队报道,P53 易位至线粒体,随后在野生型小鼠骨骼肌 mtDNA 处形成 P53-TFAM 复合体,以对大强度耐力运动产生应答。结合前面关于 P53 修复 mtDNA 的机制描述(P53 可直接与 TFAM 相互作用促进 mtDNA 的 BER 途径),说明运动通过 P53 诱导的 mtDNA 修复依旧是遵循经典的 BER 途径,但 P53 在不同运动方式调控 mtDNA 修复中的异同仍有待进一步阐明。另一方面,POLG 是线粒

体 BER 和 TLS 途径中的共通关键物质,因此,运动促进 P53-POLG-TFAM 的相互作用是否也影响 TLS 值得思考。

已知 P53 会根据生理性 ROS 水平优先穿梭至线粒体(Safdar et al., 2016),结合上述研究结果不难发现,P53 的亚细胞定位优先于线粒体而不是细胞核是一种运动诱导的普遍现象。而在骨骼肌特异性敲除 P53 的 Mutator 小鼠中,运动未能达到预防 mtDNA 突变、诱导线粒体生物发生、维持线粒体形态、减少肌症和延长小鼠寿命的效果(Safdar et al., 2016)。因此,P53 在运动中可分别以依赖或不依赖 POLG 的方式介导 mtDNA 的修复。另一方面,P53 能与 TFAM 结合并改变其与 DNA 的结合,从而抵消 TFAM 对 BER 途径中 UNG、APE1 和 OGG1 的抑制作用,故而运动通过 P53 调节 mtDNA 修复很可能还涉及了 APE1 和 OGG1。

综上所述,不同的运动方式对 mtDNA 修复途径中的关键分子有不同的调控效果,而其中阐述得最详细的修复途径就是 BER。同时,我们不难发现,无论运动作用于哪种关键分子,AMPK、 NAD^+ /NADH 和 PGC-1 α 都是核心枢纽(图 1)。



注:HIIT 为高强度间歇运动,AET 为有氧运动,RET 为抗阻运动,实线部分为已有研究支撑,虚线部分为运动调控 mtDNA 修复待验证部分,绿色部分(AMPK, NAD^+ /NADH, PGC-1 α)指通路中的核心枢纽。

图 1 不同运动方式诱导 mtDNA 修复的途径

Figure 1. Pathways of mtDNA Repair Induced by Different Exercise Types

4 总结

mtDNA 与 nDNA 一样易受外源性或内源性物质刺激引起损伤,且 mtDNA 发生氧化性损伤的频率比 nDNA 高 10~20 倍,因此,mtDNA 损伤后的修复对于维持线粒体质量和细胞稳态至关重要。线粒体 DNA 修复的途径有碱基切除修复(BER)、直接逆转(DR)、错配修复(MMR)、跨损伤修复合成(TLS)以及双链断裂修复(DSBR),其中,BER

是修复 mtDNA 氧化性损伤的主要途径。而目前关于运动调控 mtDNA 修复的直接证据大多集中于经典途径 BER,现已明确规律性运动和低氧复合运动均可通过 NAD^+ /NADH-Sirt3-OGG1 修复 mtDNA 的氧化损伤;有氧耐力运动可通过 P53 修复 mtDNA 损伤,该运动方式既可以以依赖于 POLG 的方式促进 BER,也可以以不依赖于 POLG 的方式缓解 mtDNA 突变。

目前,关于不同运动方式对 mtDNA 修复的其他途径的调控仍缺乏直接证据,因此,以下问题值得进一步探索:1)有氧运动和 HIIT 均可通过 AMPK-PGC-1 α -Sirt1 调控线粒体生物发生和抗氧化能力,虽从侧面印证了有氧运动和 HIIT 可能促进了 Sirt1 介导的 mtDNA 修复的 DSB 途径,但仍有待进一步阐明;2)已知低氧复合运动可通过 AMPK-NAD⁺/NADH-Sirt3 来上调 OGG1 的含量,促进 mtDNA 修复,但目前仍缺乏 HIIT 或抗阻训练对 NAD⁺/NADH-Sirt3-OGG1 的影响的研究;3)POLG 是 BER 途径的关键分子,而耐力运动可通过不依赖于 POLG 的方式介导 mtDNA 的修复,说明运动促进 mtDNA 修复可能存在旁路分支,这其中除了 P53 外是否还有其他靶分子或修复通路的参与?简而言之,不同的运动方式可激活不同的信号轴,但结果却很普遍:改善线粒体质量,维持细胞稳态,将相关的信号轴作为治疗某些疾病的治疗靶标。因此,为了明确可以有效改善异常代谢状态或慢性疾病的运动方式和相关靶点,有必要通过更多的研究进一步循证。

参考文献:

- 薄海,李玲,段富强,等,2014.低氧复合运动抑制低氧诱导的骨骼肌线粒体DNA氧化损伤[J].生理学报,66(5):597-604.
- 代志军,朱荣,2012.长期运动训练对青年男性淋巴细胞凋亡及线粒体DNA修复酶的影响[J].西安体育学院学报,29(3):350-354.
- 戈哲,丁树哲,2019.运动介导细胞自噬调控先天免疫的研究现状及展望[J].体育科学,39(11):67-74.
- 时庆德,张勇,2003.线粒体DNA:衰老研究的新突破[J].中国运动医学杂志,(4):383-386.
- 张媛,丁树哲,2011.p53参与运动诱导骨骼肌线粒体生物发生的分子机制[J].中国运动医学杂志,30(8):775-780.
- 张喆,崔迪,王海燕,等,2015.自主跑轮运动对C57BL/6小鼠骨骼肌线粒体蛋白输入(PIM)组件的影响[J].体育科学,35(2):48-53.
- ACHANTA G, SASAKI R, FENG L, et al., 2005. Novel role of p53 in maintaining mitochondrial genetic stability through interaction with DNA Pol gamma[J]. EMBO J, 24(19): 3482-3492.
- ALEXEYEV M, SHOKOLENKO I, WILSON G, et al., 2013. The maintenance of mitochondrial DNA integrity: Critical analysis and update[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 5(5): a12641.
- ANASTASIOU D, KREK W, 2006. SIRT1: Linking adaptive cellular responses to aging-associated changes in organismal physiology[J]. Physiology (Bethesda), 21(6): 404-410.
- ANDERSON S, BANKIER A T, BARRELL B G, et al., 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome [J]. Nature, 290(5806): 457-465.
- BAYOD S, DEL V J, LALANZA J F, et al., 2012. Long-term physical exercise induces changes in sirtuin 1 pathway and oxidative parameters in adult rat tissues[J]. Exp Gerontol, 47(12): 925-935.
- BISWAS G, GUHA M, AVADHANI N G, 2005. Mitochondria-to-nucleus stress signaling in mammalian cells: Nature of nuclear gene targets, transcription regulation, and induced resistance to apoptosis [J]. Gene, 354: 132-139.
- BOEHLER C, GAUTHIER L R, MORTUSEWICZ O, et al., 2011. Poly(ADP-ribose) polymerase 3 (PARP3), a newcomer in cellular response to DNA damage and mitotic progression [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 108(7): 2783-2788.
- BOESCH P, WEBER-LOTFI F, IBRAHIM N, et al., 2011. DNA repair in organelles: Pathways, organization, regulation, relevance in disease and aging[J]. Biochim Biophys Acta, 1813(1): 186-200.
- BOGENHAGEN D F, PINZ K G, PEREZ-JANNOTTI R M, 2001. Enzymology of mitochondrial base excision repair[J]. Prog Nucleic Acid Res Mol Biol, 68: 257-271.
- BRANDAUER J, ANDERSEN M A, KELLEZI H, et al., 2015. AMP-activated protein kinase controls exercise training-and AICAR-induced increases in SIRT3 and MnSOD [J]. Front Physiol, doi: 10.3389/fphys.2015.00085.
- BROSKEY N T, GREGGIO C, BOSS A, et al., 2014. Skeletal muscle mitochondria in the elderly: Effects of physical fitness and exercise training[J]. J Clin Endocrinol Metab, 99(5): 1852-1861.
- CANTO C, AUWERX J, 2011. Calorie restriction: Is AMPK a key sensor and effector?[J]. Physiology (Bethesda), 26(4): 214-224.
- CANTO C, MENZIES K J, AUWERX J, 2015. NAD(+) metabolism and the control of energy homeostasis: A balancing act between mitochondria and the nucleus[J]. Cell Metab, 22(1): 31-53.
- CANUGOVI C, MAYNARD S, BAYNE A C, et al., 2010. The mitochondrial transcription factor A functions in mitochondrial base excision repair[J]. DNA Repair (Amst), 9(10): 1080-1089.
- CHANDEL N S, 2014. Mitochondria as signaling organelles [J]. BMC Biol, doi: 10.1186/1741-7007-12-34.
- CHENG Y, REN X, GOWDA A S, et al., 2013. Interaction of Sirt3 with OGG1 contributes to repair of mitochondrial DNA and protects from apoptotic cell death under oxidative stress[J]. Cell Death Dis, 4: e731.
- CLINE S D, 2012. Mitochondrial DNA damage and its consequences for mitochondrial gene expression[J]. Biochim Biophys Acta, 1819(9-10): 979-991.
- COHEN H Y, MILLER C, BITTERMAN K J, et al., 2004. Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase[J]. Science, 305(5682): 390-392.
- COPELAND W C, 2008. Inherited mitochondrial diseases of DNA replication[J]. Annu Rev Med, 59: 131-146.
- DALI-YOUCHEF N, LAGOUGE M, FROELICH S, et al., 2007. Sirtuins: The 'magnificent seven', function, metabolism and longevity[J]. Ann Med, 39(5): 335-345.
- DAVID S S, O' SHEA V L, KUNDU S, 2007. Base-excision repair of oxidative DNA damage[J]. Nature, 447(7147): 941-950.
- DE SOUZA-PINTO N C, MASON P A, HASHIGUCHI K, et al., 2009. Novel DNA mismatch-repair activity involving YB-1 in human mitochondria[J]. DNA Repair (Amst), 8(6): 704-719.
- FANG E F, SCHEIBYE-KNUDSEN M, CHUA K F, et al., 2016. Nuclear DNA damage signalling to mitochondria in ageing[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 17(5): 308-321.
- FOUQUEREL E, SOBOL R W, 2014. ARTD1 (PARP1) activation and NAD(+) in DNA repair and cell death [J]. DNA Repair (Amst), 23: 27-32.
- GERHART-HINES Z, RODGERS J T, BARE O, et al., 2007. Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1alpha[J]. EMBO J, 26(7): 1913-1923.
- GIBALA M J, MCGEE S L, GARNHAM A P, et al., 2009. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling

- and increases the expression of PGC-1 α in human skeletal muscle[J]. *J Appl Physiol* (1985), 106(3): 929-934.
- GILKERSON R, BRAVO L, GARCIA I, et al., 2013. The mitochondrial nucleoid: Integrating mitochondrial DNA into cellular homeostasis[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 5(5): a11080.
- GOLDENTHAL M J, MARIN-GARCIA J, 2004. Mitochondrial signaling pathways: A receiver/integrator organelle[J]. *Mol Cell Biochem*, 262(1-2): 1-16.
- GRAZIEWICZ M A, LONGLEY M J, COPELAND W C, 2006. DNA polymerase gamma in mitochondrial DNA replication and repair[J]. *Chem Rev*, 106(2): 383-405.
- GUERRA B, GUADALUPE-GRAU A, FUENTES T, et al., 2010. SIRT1, AMP-activated protein kinase phosphorylation and downstream kinases in response to a single bout of sprint exercise: Influence of glucose ingestion[J]. *Eur J Appl Physiol*, 109(4): 731-743.
- GURD B J, PERRY C G, HEIGENHAUSER G J, et al., 2010. High-intensity interval training increases SIRT1 activity in human skeletal muscle[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 35(3): 350-357.
- HEGDE M L, HAZRA T K, MITRA S, 2008. Early steps in the DNA base excision/single-strand interruption repair pathway in mammalian cells[J]. *Cell Res*, 18(1): 27-47.
- HOKARI F, KAWASAKI E, SAKAIA A, et al., 2010. Muscle contractile activity regulates Sirt3 protein expression in rat skeletal muscles [J]. *J Appl Physiol* (1985), 109(2): 332-340.
- IJSSELSTEIJN R, JANSEN J G, DE WIND N, 2020. DNA mismatch repair-dependent DNA damage responses and cancer [J]. *DNA Repair (Amst)*, doi:10.1016/j.dnarep.2020.102923.
- IZUMI T, BROWN D B, NAIDU C V, et al., 2005. Two essential but distinct functions of the mammalian abasic endonuclease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(16): 5739-5743.
- JACOBS A L, SCHAR P, 2012. DNA glycosylases: In DNA repair and beyond[J]. *Chromosoma*, 121(1): 1-20.
- JACOBS R A, LUNDBY C, 2013. Mitochondria express enhanced quality as well as quantity in association with aerobic fitness across recreationally active individuals up to elite athletes[J]. *J Appl Physiol* (1985), 114(3): 344-350.
- JAGER S, HANDSCHIN C, ST-PIERRE J, et al., 2007. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(29): 12017-12022.
- JAZWINSKI S M, 2014. The retrograde response: A conserved compensatory reaction to damage from within and from without [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 127: 133-154.
- JOHNSON M L, IRVING B A, LANZA I R, et al., 2015. Differential effect of endurance training on mitochondrial protein damage, degradation, and acetylation in the context of aging [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 70(11): 1386-1393.
- KALOUSHI A, SOUTOGLU E, 2016. Nuclear compartmentalization of DNA repair[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 37: 148-157.
- KASIVISWANATHAN R, GUSTAFSON M A, COPELAND W C, et al., 2012. Human mitochondrial DNA polymerase gamma exhibits potential for bypass and mutagenesis at UV-induced cyclobutane thymine dimers[J]. *J Biol Chem*, 287(12): 9222-9229.
- KAZAK L, REYES A, HOLT I J, 2012. Minimizing the damage: Repair pathways keep mitochondrial DNA intact[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 13(10): 659-671.
- KLUNGLAND A, ROSEWELL I, HOLLENBACH S, et al., 1999. Accumulation of premutagenic DNA lesions in mice defective in removal of oxidative base damage [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(23): 13300-13305.
- KROKAN H E, BJORAS M, 2013. Base excision repair [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 5(4): a12583.
- LARSEN N B, RASMUSSEN M, RASMUSSEN L J, 2005. Nuclear and mitochondrial DNA repair: Similar pathways? [J]. *Mitochondrion*, 5(2): 89-108.
- LEE D C, BRELENTHIN A G, THOMPSON P D, et al., 2017. Running as a key lifestyle medicine for longevity [J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 60(1): 45-55.
- LI G M, 2008. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair [J]. *Cell Res*, 18(1): 85-98.
- LIEBER M R, 2010. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway [J]. *Annu Rev Biochem*, 79: 181-211.
- LINDAHL T, WOOD R D, 1999. Quality control by DNA repair [J]. *Science*, 286(5446): 1897-1905.
- LITTLE J P, SAFDAR A, WILKIN G P, et al., 2010. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: Potential mechanisms [J]. *J Physiol*, 588(Pt 6): 1011-1022.
- LIU J, LI D, ZHANG T, et al., 2017. SIRT3 protects hepatocytes from oxidative injury by enhancing ROS scavenging and mitochondrial integrity [J]. *Cell Death Dis*, 8(10): e3158.
- LYABIN D N, ELISEEVA I A, OVCHINNIKOV L P, 2014. YB-1 protein: Functions and regulation [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 5(1): 95-110.
- MANDAL S M, HEGDE M L, CHATTERJEE A, et al., 2012. Role of human DNA glycosylase Nei-like 2 (NEIL2) and single strand break repair protein polynucleotide kinase 3'-phosphatase in maintenance of mitochondrial genome [J]. *J Biol Chem*, 287(4): 2819-2829.
- MARCU R, WICZER B M, NEELEY C K, et al., 2014. Mitochondrial matrix Ca²⁺(+) accumulation regulates cytosolic NAD⁺/NADH metabolism, protein acetylation, and sirtuin expression [J]. *Mol Cell Biol*, 34(15): 2890-2902.
- MEGNA M, LEMBO S, BALATO N, et al., 2017. "Active" photoprotection: Sunscreens with DNA repair enzymes [J]. *G Ital Dermatol Venereol*, 152(3): 302-307.
- MENSHIKOVA E V, RITOV V B, FAIRFULL L, et al., 2006. Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 61(6): 534-540.
- MICHISHITA E, PARK J Y, BURNESKIS J M, et al., 2005. Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins [J]. *Mol Biol Cell*, 16(10): 4623-4635.
- NAKAMOTO H, KANEKO T, TAHARA S, et al., 2007. Regular exercise reduces 8-oxodG in the nuclear and mitochondrial DNA and modulates the DNA repair activity in the liver of old rats [J]. *Exp Gerontol*, 42(4): 287-295.
- OSBORNE B, BENTLEY N L, MONTGOMERY M K, et al., 2016. The role of mitochondrial sirtuins in health and disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 100: 164-174.
- PALACIOS O M, CARMONA J J, MICHAN S, et al., 2009. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-

- Ialpha in skeletal muscle[J]. *Aging (Albany NY)*, 1(9): 771-783.
- PARISE G, PHILLIPS S M, KACZOR J J, et al., 2005. Antioxidant enzyme activity is up-regulated after unilateral resistance exercise training in older adults[J]. *Free Radic Biol Med*, 39(2): 289-295.
- POULSEN H E, LOFT S, VISTISEN K, 1996. Extreme exercise and oxidative DNA modification[J]. *J Sports Sci*, 14(4): 343-346.
- PRAKASH A, DOUBLIE S, 2015. Base excision repair in the mitochondria[J]. *J Cell Biochem*, 116(8): 1490-1499.
- PRASAD R, CAGLAYAN M, DAI D P, et al., 2017. DNA polymerase beta: A missing link of the base excision repair machinery in mammalian mitochondria[J]. *DNA Repair (Amst)*, 60: 77-88.
- RADAK Z, ATALAY M, JAKUS J, et al., 2009. Exercise improves import of 8-oxoguanine DNA glycosylase into the mitochondrial matrix of skeletal muscle and enhances the relative activity [J]. *Free Radic Biol Med*, 46(2): 238-243.
- RADAK Z, BORI Z, KOLTAI E, et al., 2011. Age-dependent changes in 8-oxoguanine-DNA glycosylase activity are modulated by adaptive responses to physical exercise in human skeletal muscle [J]. *Free Radic Biol Med*, 51(2): 417-423.
- RADAK Z, TORMA F, BERKES I, et al., 2019. Exercise effects on physiological function during aging[J]. *Free Radic Biol Med*, 132: 33-41.
- REIMERS C D, KNAPP G, REIMERS A K, 2012. Does physical activity increase life expectancy? A review of the literature[J]. *J Aging Res*, 2012: 243958.
- RICHTER C, PARK J W, AMES B N, 1988. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85(17): 6465-6467.
- ROSSI M N, CARBONE M, MOSTOCOTTO C, et al., 2009. Mitochondrial localization of PARP-1 requires interaction with mitofilin and is involved in the maintenance of mitochondrial DNA integrity [J]. *J Biol Chem*, 284(46): 31616-31624.
- RUDERMAN N B, XU X J, NELSON L, et al., 2010. AMPK and SIRT1: A long-standing partnership? [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 298(4): E751-E760.
- SAFDAR A, KHRAPKO K, FLYNN J M, et al., 2016. Exercise-induced mitochondrial p53 repairs mtDNA mutations in mutator mice [J]. *Skelet Muscle*, doi: 10.1186/s13395-016-0075-9.
- SAKAI Y, IWAMURA Y, HAYASHI J, et al., 1999. Acute exercise causes mitochondrial DNA deletion in rat skeletal muscle[J]. *Muscle Nerve*, 22(2): 258-261.
- SAKI M, PRAKASH A, 2017. DNA damage related crosstalk between the nucleus and mitochondria[J]. *Free Radic Biol Med*, 107: 216-227.
- SALE J E, 2013. Translesion DNA synthesis and mutagenesis in eukaryotes[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 5(3): a12708.
- SALEEM A, HOOD D A, 2013. Acute exercise induces tumour suppressor protein p53 translocation to the mitochondria and promotes a p53-Tfam-mitochondrial DNA complex in skeletal muscle [J]. *J Physiol*, 591(14): 3625-3636.
- SHI Z, LI C, YIN Y, et al., 2018. Aerobic interval training regulated SIRT3 attenuates high-fat-diet-associated cognitive dysfunction [J]. *Biomed Res Int*, doi: 10.1155/2018/2708491.
- SHORT K R, VITTONI J L, BIGELOW M L, et al., 2003. Impact of aerobic exercise training on age-related changes in insulin sensitivity and muscle oxidative capacity[J]. *Diabetes*, 52(8): 1888-1896.
- SLITER D A, MARTINEZ J, HAO L, et al., 2018. Parkin and PINK1 mitigate STING-induced inflammation[J]. *Nature*, 561(7722): 258-262.
- SPELBRINK J N, 2010. Functional organization of mammalian mitochondrial DNA in nucleoids: History, recent developments, and future challenges[J]. *IUBMB Life*, 62(1): 19-32.
- STEWART J B, CHINNERY P F, 2015. The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease [J]. *Nat Rev Genet*, 16(9): 530-542.
- SZCZESNY B, BRUNYANSZKI A, OLAH G, et al., 2014. Opposing roles of mitochondrial and nuclear PARP1 in the regulation of mitochondrial and nuclear DNA integrity: Implications for the regulation of mitochondrial function[J]. *Nucleic Acids Res*, 42(21): 13161-13173.
- TAHBAZ N, SUBEDI S, WEINFELD M, 2012. Role of polynucleotide kinase/phosphatase in mitochondrial DNA repair [J]. *Nucleic Acids Res*, 40(8): 3484-3495.
- TAIT S W, GREEN D R, 2012. Mitochondria and cell signalling[J]. *J Cell Sci*, 125(Pt 4): 807-815.
- TAIVASSALO T, FU K, JOHNS T, et al., 1999. Gene shifting: A novel therapy for mitochondrial myopathy [J]. *Hum Mol Genet*, 8(6): 1047-1052.
- TAKAHASHI M, HOOD D A, 1996. Protein import into subsarcolemmal and intermyofibrillar skeletal muscle mitochondria. Differential import regulation in distinct subcellular regions [J]. *J Biol Chem*, 271(44): 27285-27291.
- TAKAHASHI M, TERANISHI M, ISHIDA H, et al., 2011. Cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) photolyase repairs ultraviolet-B-induced CPDs in rice chloroplast and mitochondrial DNA[J]. *Plant J*, 66(3): 433-442.
- TALHAOU I, LEBEDEVA N A, ZARKOVIC G, et al., 2016. Poly (ADP-ribose) polymerases covalently modify strand break termini in DNA fragments in vitro[J]. *Nucleic Acids Res*, 44(19): 9279-9295.
- TAO R, COLEMAN M C, PENNINGTON J D, et al., 2010. Sirt3-mediated deacetylation of evolutionarily conserved lysine 122 regulates Mn-SOD activity in response to stress[J]. *Mol Cell*, 40(6): 893-904.
- TARNOPOLSKY M A, 2009. Mitochondrial DNA shifting in older adults following resistance exercise training [J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 34(3): 348-354.
- TARNOPOLSKY M, ZIMMER A, PAIKIN J, et al., 2007. Creatine monohydrate and conjugated linoleic acid improve strength and body composition following resistance exercise in older adults [J]. *PLoS One*, 2(10): e991.
- VAN HOUTEN B, HUNTER S E, MEYER J N, 2016. Mitochondrial DNA damage induced autophagy, cell death, and disease [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 21: 42-54.
- WHITE A T, SCHENK S, 2012. NAD(+)/NADH and skeletal muscle mitochondrial adaptations to exercise[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 303(3): E308-E321.
- WONG T S, RAJAGOPALAN S, TOWNSLEY F M, et al., 2009. Physical and functional interactions between human mitochondrial single-stranded DNA-binding protein and tumour suppressor p53 [J]. *Nucleic Acids Res*, 37(2): 568-581.
- YAKES F M, VAN HOUTEN B, 1997. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(2): 514-519.

An Empirical Study of the Recommendations on Physical Activity for Preschoolers—Take Changsha as an Example

CHANG Zhenya^{1,2}

1. College of Physical Education, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China;

2. College of Physical Education and Health, East China Normal University, Shanghai 200241, China

Abstract: Objective: The movement behavior includes six parts, i.e., daytime sleep duration (DSP), night sleep duration (NSP), sedentary behavior (SB), light physical activity (LPA), medium physical activity (MPA) and vigorous physical activity (VPA), the recommended amounts of these six parts were established and compared with “Movement Behavior Guideline for Chinese Preschoolers in 3~6 Years”. Methods: 530 preschool children were recruited in this study, the accelerometer was used to continuously measure movement behavior status for 7 days, 24 hours per day, and the National Fitness Measurement Standard Manual (preschoolers part) was used to assess their physical fitness level. The partial correlation analysis, ROC analysis and binary logistic regression analysis were used to conduct statistical analysis. Results: 1) After controlling for gender and age, the DSP, LPA, MPA, VPA, MVPA and TPA were positively associated with physical fitness level, while the NSP and SB were negatively associated with physical fitness level; 2) after adjusting gender and age, the MPA, VPA, MVPA and TPA were increased, and the ratio of not reaching physical fitness standard was decreased ($OR < 1$, $P < 0.05$); on the contrary, with the increase of SB level, the ratio of not reaching physical fitness standard was increased ($OR > 1$, $P < 0.05$); 3) all of the SB, LPA, MPA, VPA, MVPA, and TPA have significant distinguishing effect on physical fitness level, the best cut-off value of SB, LPA, MPA, VPA, MVPA and TPA were 512 min/d, 176 min/d, 37 min/d, 9 min/d, 46 min/d and 233 min/d, respectively; 4) compared with those who did not meet the recommended physical activity amount, when the recommended amounts of SB, LPA, MPA, VPA, MVPA and TPA in this study were reached, the ratio of not reaching physical fitness standard was decreased ($OR < 1$, $P < 0.05$). Conclusions: compared with “Movement Behavior Guideline for Chinese Preschoolers in 3~6 Years”, the recommended amount of MVPA is lower and the TPA is higher. At the same time, the recommended amounts of LPA, MPA, VPA and SB have been added. However, further research should treat this conclusion carefully, and more indicators and larger samples should be considered to promote the development of related guidelines.

Keywords: preschool children; movement behaviors; recommendation; empirical exploration

(上接第72页)

YASUI A, EKER A P, YASUHIRA S, et al., 1994. A new class of DNA photolyases present in various organisms including aplacental mammals[J]. EMBO J, 13(24): 6143-6151.

YING W, 2008. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences[J]. Antioxid Redox Signal, 10(2): 179-206.

ZONG W X, RABINOWITZ J D, WHITE E, 2016. Mitochondria and cancer[J]. Mol Cell, 61(5): 667-676.

Research Progress and Prospects in Mitochondrial DNA Repair and Exercise Stress

ZHANG Zhe^{1,2}, DING Shuzhe^{1,2*}

1. Key Laboratory of Adolescent Health Assessment and Exercise Intervention, Ministry of Education, East China Normal University, Shanghai 200241, China; 2. College of Physical Education and Health, East China Normal University, Shanghai 200241, China

Abstract: Due to the specific function of mitochondrion, mitochondrial DNA (mtDNA) is more fragile than nuclear DNA (nDNA). If the mtDNA damage can't be repaired, the accumulated damage will induce mitochondrial dysfunction. Therefore, mtDNA repair is an essential step in the quality control of mitochondrion. Based on the latest research on mtDNA repair, the mitochondrial DNA polymerase γ (POLG), nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺/NADH)-NAD⁺ dependent histone deacetylase (SIRT), 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) and P53 are suggested as key molecules in mediating mtDNA repair in this study. In addition, exercise can promote mtDNA repair by regulating the classic base excision repair (BER) pathway through Sirt3-OGG1 and P53. This study also explored the possible mechanism of exercise stress on mtDNA repair and the pathway of mtDNA repair related molecules to mediate exercise adaptation, which is expected to provide new theoretical thoughts for further research.

Keywords: mtDNA repair; mitochondrial quality control; exercise