

线粒体动力学在牙源性间充质干细胞中的研究现状

黄珞 梁爱琳 龚启梅

中山大学附属口腔医院, 光华口腔医学院, 广东省口腔医学重点实验室, 广州 510055

通信作者: 龚启梅, Email: gongqim@mail.sysu.edu.cn

【摘要】 牙源性间充质干细胞(DMSC)是一种来源于哺乳动物牙齿相关组织的间充质干细胞, 其具有自我更新、多向分化和免疫调节等功能, 且容易获得, 对组织工程学和再生医学具有重要的研究意义。线粒体是高度动态的细胞器, 通过不断地分裂和融合来维持其形态, 也称为线粒体动力学。研究表明, 线粒体动力学是决定干细胞命运的关键因素。线粒体分裂和融合的协调对细胞功能和应激反应至关重要, 而异常的分裂和融合导致干细胞功能障碍。近年来研究证实, DMSC在增殖、分化、凋亡和衰老过程中经历特定的线粒体动力学过程。本文就线粒体动力学分子调控的机制以及间充质干细胞线粒体的形态特征, 线粒体动力学在生理和应激微环境下对DMSC行为的调控作用作一综述。

【关键词】 间充质干细胞; 牙源性间充质干细胞; 线粒体; 线粒体动力学; 干细胞命运

基金项目: 国家自然科学基金(81870750)

引用著录格式: 黄珞, 梁爱琳, 龚启梅. 线粒体动力学在牙源性间充质干细胞中的研究现状[J/OL]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2022, 16(6): 352-357.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2022.06.003

Research progress of mitochondrial dynamics in dental mesenchymal stem cells

Huang Luo, Liang Ailin, Gong Qimei

Hospital of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China

Corresponding author: Gong Qimei, Email: gongqim@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Dental mesenchymal stem cells (DMSCs) are derived from mammalian tooth-related tissues, which have the functions of self-renewal, multi-directional differentiation and immunomodulation. They have important research values in tissue engineering and regenerative medicine. Mitochondria, known as mitochondrial dynamics, are highly dynamic organelles that maintain their morphology through continuous division and fusion. Studies have shown that mitochondrial dynamics is a key factor in determining the fate of stem cells. The coordination of mitochondrial division and fusion is vital for cell function and stress response, while abnormal dynamic may lead to the dysfunction of stem cells. Recent studies have

confirmed that DMSCs undergo specific mitochondrial dynamics in the process of proliferation, differentiation, apoptosis or senescence. This article reviewed the molecular regulation mechanism of mitochondrial dynamics, the morphological characteristics of mesenchymal stem cell mitochondria, and the role of mitochondrial dynamics in regulating DMSCs behavior in physiological and stress microenvironment.

【Key words】 Mesenchymal stem cells; Dental mesenchymal stem cells; Mitochondria; Mitochondrial dynamics; Stem cells fate

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81870750)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2022.06.003

在牙齿及其支持结构中多个不同的干细胞群体, 主要包括牙髓干细胞(dental pulp stem cell, DPSC)、根尖牙乳头干细胞(apical papilla stem cells, SCAP)、乳牙干细胞(stem cells from exfoliate deciduous teeth, SHED)、牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cell, PDLSC)、牙囊干细胞(dental follicle stem cell, DFSC)和牙龈间充质干细胞(gingival mesenchymal stem cell, GMSC)等, 它们与骨髓来源的间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)具有相似的特性。因此, 这些干细胞群体也称为牙源性间充质干细胞(dental mesenchymal stem cell, DMSC)^[1]。DPSC可分化为成牙本质细胞进而修复受损的牙本质; PDLSC参与牙周组织的动态平衡和修复过程。DMSC在表型和功能特性方面各异, 但均在牙齿及周围组织的稳态和再生修复中起着重要作用^[2]。因此, DMSC相关的研究对于组织工程学和再生医学具有重要的意义。

线粒体是高度动态的细胞器, 在干细胞的生物学过程中起着关键作用, 包括能量代谢、氧化应激反应、钙平衡和细胞凋亡等。线粒体形态的动态变化是线粒体功能的基础, 包括持续的分裂和融合, 形成一个动态网络以维持它们的数量、形态、质量和细胞功能^[3-5]。线粒体的动态变化可以用不同的形态特征来描述, 线粒体分裂形成小而圆的线粒体, 而线粒体融合构成细长的线粒体和高度互联的线粒体网络^[3, 6]。线粒体分裂对细胞生长和分裂是必不可少的, 能为细胞的生命活动提供足够数量的线粒体, 维持细胞极性, 并且使得受损的线粒体得以清除^[7]。相对应地, 线粒体融合则允许线粒体内容的交换和连接, 为细胞生命活动提供足够的能量, 减轻氧化损伤并维持膜电位^[8]。通过分裂和融合这一对相反形

态变化,线粒体完成对自身数量、大小及其在细胞质中定位的调节从而调控细胞生命活动的过程,称其为线粒体动力学。

最新研究表明,线粒体动力学在干细胞的自我更新、分化和死亡过程中起着关键的调节作用。线粒体动力学对于干细胞获得特定行为所需的线粒体形态至关重要,使细胞能够对环境改变做出快速和适应性的反应。对线粒体动力学的干预可能影响DMSC的命运,这为进一步研究DMSC相关的生物学功能提供了新的思路^[5,7]。

一、线粒体动力学的调控机制

线粒体的分裂和融合是由一系列进化上保守的蛋白和动力蛋白相关的GTP酶调控的。线粒体动力相关蛋白1(dynamamin-related protein 1, Drp1)和一系列线粒体外膜受体,如线粒体分裂因子(mitochondrial fission factor, MFF)、线粒体分裂蛋白1(fission 1, Fis1)和线粒体动力学蛋白(mitochondrial dynamics proteins of 49 000 and 51 000, MiD49和MiD51)等共同调控线粒体的分裂^[9-10]。Drp1由4个不同的结构域组成,N端是GTP结构域,其次是中间结构域、可变域(或B-插入)和C-末端的GED。与经典的发动蛋白一样,Drp1也含有束信号元件(bundle signalling element, BSE),不含Pleckstrin同源(PH)结构域或富含脯氨酸和精氨酸的结构域。BSE将GTPase结构域与茎结构域连接,从而使Drp1与膜结合并随后进行寡聚^[11-12]。

线粒体的分裂是通过募集Drp1及其锚定在线粒体膜外膜上进行的^[13]。Drp1通过与4种受体Fis1、MFF、MiD49和MiD51结合而锚定在线粒体膜外膜上,但这些特定受体诱导Drp1的机制与过程尚不明确。活性的Drp1寡聚体组装成环状结构围绕在线粒体特定的位点上,内质网在外围包裹该位点,链接内质网膜与线粒体外膜的肌动蛋白丝通过Drp1发挥GTP酶的作用诱导收缩,将母体线粒体切割成子体线粒体^[14]。近期也有研究提出,Drp1不足以独立完成线粒体分裂的过程,其需要下游GTP酶如发动蛋白2(dynamamin 2, DN2)的辅助^[12,15]。但也有研究表明,DNM1、DNM2和DNM3在线粒体分裂过程中并非是必不可少的^[16]。

线粒体融合主要由位于线粒体内膜的视神经萎缩症蛋白1(optic atrophy 1, OPA1)和位于外膜的线粒体融合蛋白1/2(mitochondrial fusion protein 1/2, Mfn1/2)介导^[17]。两个线粒体需要紧密结合才能够开启线粒体融合过程^[18]。线粒体外膜(outer mitochondrial membrane, OMM)的融合是由Mfn1和Mfn2这一组大型同源GTP酶所调控的。Mfn1/Mfn2过表达会导致核周的线粒体网络形成,而敲低Mfn1会导致线粒体成碎片化表现,敲低Mfn2则会使线粒体变为球形。一旦两个线粒体OMM的密切接触建立,Mfns在相邻线粒体之间的同型或异型跨膜复合物形成,进而介导OMM融合^[19]。线粒体内膜(inner mitochondrial membrane, IMM)融合发生在OMM融合之后,两侧内膜上的OPA1与心磷脂(cardiolipin, CL)相结合,随之OPA1水解GTP发挥功能使两膜融合。研究显示,依赖于OPA1的IMM融合也受到Mfn1影响^[20]。提示,内外膜的融合并不是孤立的过程以及Mfn1与OPA1可能存在相互作用^[21]。

因此,Drp1、Mfn1/2、Fis1以及OPA1等基因的表达水平常常被用作检测线粒体动力学变化的关键指标。针对线粒体动力学的研究,不仅要检测相关基因蛋白的表达变化,还需要通过透射电镜、线粒体荧光探针染色和线粒体免疫荧光染色等对线粒体的形态和分布进行观察与分析等。

二、间充质干细胞线粒体的形态特征

线粒体是合成腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)和进行能量代谢的主要场所,而有氧呼吸时的氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)是产生ATP的主要过程。OXPHOS和ATP的产生过程发生在线粒体的内膜^[22]。线粒体嵴和线粒体整体的形状影响电子传输链和蛋白质复合物的产生,这对生物能量代谢过程具有重要意义^[23-24]。一般来说,发育良好的、具有复杂嵴结构的相互关联的线粒体比不成熟的球形线粒体更有效地产生能量,因为它们有更大的表面积,可以容纳更多的膜间蛋白。在依赖OXPHOS产生能量的细胞中,线粒体通常呈现融合或相互连接的形态^[25-26]。相比之下,利用糖酵解代谢产生能量的细胞内,主要存在的是未融合的球形线粒体^[25]。

MSC作为组织特异性干细胞,其长期处于低氧的组织环境中,相较于氧化磷酸化,其代谢更倾向于糖酵解^[27]。与此相似的还有胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)和多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC),它们的线粒体也通常处于不成熟状态,表现为定位于核周的碎裂、点状或球状形态。对于MSC,其线粒体的形态特征也与其代谢特征相适应,但其形态常常表现为小管状的线粒体形态^[28-29]。总之,MSC代谢更偏向于糖酵解,而线粒体也通常呈现为不成熟的状态。同时,除能量代谢因素外,在不同MSC中影响线粒体形态的因素和调控机制均有所不同。

MSC中线粒体多倾向于分裂的、不成熟的形态,线粒体融合相关因子也在其中发挥作用^[30]。具有未成熟和点状线粒体的雄性生殖系干细胞对融合障碍十分敏感,Mfn1/2或OPA1的敲除会导致线粒体功能障碍^[31]。此外,神经干细胞中OPA1或Mfn1/2的缺失会破坏线粒体结构,引起细胞功能障碍^[32]。这些研究表明,MSC中线粒体的形态维持不是单一因素控制的过程,分裂和融合的动态调控对于维持干细胞中正常的线粒体形态是必不可少的。

此外,由于干细胞潜能和分化趋势不同,即使是相同类型的干细胞也会经历代谢转变和不同的线粒体动力学。线粒体在不同生理条件下表现出相当大的形态结构多样性,如ESC表现出两种稳定但观上截然不同的多能性状态,分别被称为“幼稚态”和“启动态”^[29,33]。随着向神经前体细胞的分化,iPSC逐渐形成具有明确嵴的融合线粒体,并伴随着从糖酵解到OXPHOS的代谢转换^[34]。MSC在常氧培养下的线粒体形态也会发生变化,更趋近于成熟的线粒体形态^[27]。总之,线粒体网络在不同类型的干细胞以及不同的多能状态和特定的命运之间存在差异。这种由线粒体分裂和融合介导的线粒体形态变化对环境刺激相当敏感,具有较强的可塑性。

三、生理状态下牙源性间充质干细胞的线粒体动力学

1. 间充质干细胞分化时线粒体动力学的表现:与大多数

具有不成熟线粒体的干细胞不同,正在分化的干细胞通常会发育出成熟的线粒体网络^[35]。分化过程中的MSC线粒体形态发生明显改变,伸长并相互连接形成网络化结构,同时*Drp1*表达显著降低,*OPA1*表达显著增加,表明线粒体融合有利于MSC向神经细胞分化^[35-36]。在诱导MSC成骨和成脂向分化的早期阶段,通过*Mfn1*和*Mfn2*介导的线粒体融合诱导MSC成骨和成脂,并表现出促进线粒体增殖和网络重建的作用。此外,敲除*Mfn2*基因会抑制干细胞呼吸活动,导致MSC分化能力降低^[37]。在人IPSC向心肌细胞分化的过程中,阻断*Drp1*会诱导从糖酵解到OXPHOS的代谢转变,从而提高细胞的分化能力^[38]。在对大鼠软骨干细胞(cartilage-derived progenitor/stem cells, CPSC)的研究中,发现线粒体融合促进了CPSC的软骨向分化,*Mfn2*过表达可通过Notch2通路加速CPSC的软骨向分化^[39]。线粒体网络通过OXPHOS增加线粒体能量的产生,以用于分化所需的能量需求^[40-41]。

在DMSC相关研究中,人DPSC向成牙本质细胞分化的起始点特征还包括线粒体延长、嵴发达、线粒体耗氧速率增加、线粒体ATP生成增加、线粒体糖酵解酶活性上调以及糖酵解能力和糖酵解储备能力增加^[42]。人SHED神经向分化时,通过免疫荧光染色观察到线粒体形态显著延长^[36]。同样,在对大鼠牙乳头细胞的研究中,*SIRT4*会影响线粒体的代谢,而*SIRT4*与*OPA1*的相互作用可调节线粒体的形态,影响细胞的成牙向分化^[43-44]。

线粒体动力学通过调节能量代谢改变MSC的分化命运。然而,线粒体动力学介导的MSC分化调控并不局限于能量代谢调控。线粒体自噬过程也可参与调节干细胞分化。在DPSC诱导成骨向分化的过程中,Kruppel样因子2(Kruppel like factor 2, KLF2)通过调控线粒体自噬和线粒体代谢调节细胞的分化,透射电镜观察到自噬小泡和损伤的线粒体等结构^[45]。另有研究通过透射电镜和共聚焦显微镜可以观察到线粒体在自噬活动增强之前变得破碎,线粒体分裂的相关基因如*Fis1*和*OPA1*表达升高^[44,46],表明线粒体分裂在自噬中发挥重要的作用^[47]。

尽管线粒体动力学与MSC钙稳态之间的关系尚不明确,但已有研究表明,线粒体动力学可以通过调节细胞内钙平衡来影响干细胞的分化。有文献报道,过度的线粒体分裂加剧了胞浆Ca²⁺进入和CaMK II活性,导致β连环蛋白的降解,最终抑制IPSC的分化和胚胎发育^[48]。

综上所述,线粒体的分裂和融合通过调节线粒体代谢调控MSC的分化过程,而钙平衡和线粒体的自噬过程也参与其中,从而构成复杂的调控网络。

2. 间充质干细胞衰老时线粒体动力学的表现:干细胞通过体外细胞培养进行扩增,但此时细胞的分裂数量是有限的,因为体外长期扩增培养会诱使干细胞衰老。相较于BMSC,DPSC的衰老反应更弱,更倾向于细胞的成骨和成脂向分化^[49]。通过线粒体荧光探针染色发现,衰老的MSC线粒体表现为复杂的相互连接网络,均匀分布在细胞质中,提示线粒体融合过程增强^[50]。与第4代BMSC相比,第12代BMSC中*Drp1*的表达显著下调,而*Mfn2*的表达明显上调,表

明这些细胞经历了伴随线粒体融合的衰老^[51]。过度的线粒体融合可能通过改变活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平而对细胞产生不利影响。在去铁胺诱导的衰老Chang liver细胞中,线粒体形态明显伸长,此类线粒体ROS的产生增加,呼吸活性减弱。此外,*Drp1-K38A*和*Fis1-ΔTM*过表达会阻断线粒体分裂,可成功地在正常Chang liver细胞中诱导出ROS升高的衰老表型^[52]。有研究显示,在衰老的DPSC中有大量自噬小体形成,推测其是为了对抗细胞的衰老过程,但尚不明确是否发生了线粒体自噬^[53]。而近期的研究发现,褪黑素可以保护MSC免受衰老相关的线粒体功能障碍,其通过增加组织血流灌注和促进新生血管形成,挽救了复制性衰老MSC的功能障碍并使小鼠后肢缺血模型的功能恢复,这种效果与线粒体自噬增加和线粒体功能改善有关^[54]。

值得注意的是,衰老过程中线粒体融合的增加并不总是有害的^[55]。在融合过程中,去极化的线粒体和正常的线粒体可以连接并交换其内容,有助于修复受损的线粒体和维持膜电位^[56]。然而,当去极化和受损的线粒体超载时,过度融合可能会加剧线粒体的功能障碍。

3. 间充质干细胞凋亡时线粒体动力学的表现:细胞凋亡通常伴随着细胞线粒体的异常断裂。据报道,久效磷诱导人脐带MSC凋亡后,*Fis1*表达显著增加,*Mfn1*和*Mfn2*表达降低^[57]。另有研究发现,地塞米松增加MSC线粒体的分裂,同时减少线粒体的融合。*Fis1*和*MFF*的增加促进线粒体分裂,而*Mfn1*和*Mfn2*的降低则抑制线粒体融合。这些线粒体动力学改变有助于促进BMSC的凋亡和抑制其成骨^[58]。*Drp1*的抑制剂mdivi-1显著改善过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)诱导的PDLSC和人W8B2+心肌细胞的凋亡和死亡^[59-60]。在不同的细胞凋亡或死亡途径刺激下,线粒体动力学对凋亡存在正负双向的调控。凋亡的增加常归因于线粒体分裂的增强,进而作用于Bcl-2家族依赖的凋亡通路和相关分子。此外,线粒体动力学途径减轻钙超载所致细胞死亡的作用和机制有待进一步证实。

四、外源性刺激条件下牙源性间充质干细胞的线粒体动力学

1. 氧化应激条件下间充质干细胞线粒体动力学的变化:氧化应激是指体内氧化与抗氧化作用失衡的一种状态,当失衡倾向于氧化并导致自由基大量产生,即氧化应激。在病理条件下,线粒体可产生过量的ROS,进而导致线粒体受损。而受损的线粒体在线粒体动力学调控过程中(如过度融合)会导致ROS持续释放的恶性循环^[61]。表明线粒体动力学和ROS产生之间复杂的相互作用。

研究发现,φ=3%低氧处理的胎盘间充质干细胞较φ=8%低氧处理组的线粒体形态更碎片化,比表面积、周长以及直径均减小^[62]。H₂O₂诱导的氧化应激和ROS增加导致人MSC的线粒体碎裂;此外,生物抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸和抗坏血酸的抗氧化衍生物2-磷酸抗坏血酸联合使用,成功抑制线粒体的分裂,减少ROS的产生,并稳定线粒体膜电位^[63]。DMSC的相关研究表明,低氧模拟物二氯化钴可促进*Drp1*上调进而介导PDLSC线粒体的分裂;H₂O₂诱导PDLSC细胞损伤和线粒体分裂,靶向抑制*Drp1*可显著增加ATP水平,抑制

ROS生成,最终减少细胞凋亡,表明ROS-Drp1依赖的线粒体通路在H₂O₂诱导的PDLSC凋亡中起重要作用^[60,64]。这些结果表明,氧化应激和高ROS水平会导致线粒体动力学异常,特别是线粒体过度分裂;降低ROS水平有助于恢复正常的线粒体动力学。此外,线粒体动力学的调节也有利于逆转ROS的过度生成。有研究设置低氧、H₂O₂及低糖条件体外对敲除HIF1- α 的SHED进行刺激,胞浆和线粒体内ROS水平较对照组明显升高,SHED活性受到明显抑制。ROS的主要产生场所是线粒体,且HIF1- α 在维持缺氧早期细胞存活的过程中起着氧化还原稳态和葡萄糖代谢的中枢调节作用^[65]。然而,线粒体动力学与HIF1- α 对于细胞稳态的调节尚不清楚。

2. 理化刺激对间充质干细胞线粒体动力学的影响:理化刺激或外源性毒素对MSC的线粒体动力学具有潜在的影响。有研究发现,2 Gy电离辐射照射后4 h,人BMSC线粒体长度略有增加,进一步实验显示,小鼠胚胎成纤维细胞中的OPA1基因敲除导致其对辐射的适应能力下降,提示线粒体网络可能参与BMSC对辐射适应的调节^[66]。在体外研究中,甲基苯丙胺暴露抑制了由于OXPHOS异常而导致的BMSC成骨向分化,减少了ATP的生成和线粒体膜电位的去极化。这些线粒体功能障碍归因于线粒体生物发生和线粒体融合受损^[67]。同样,一种碳质颗粒毒物炭黑Printx90引起BMSC线粒体功能障碍,这与抑制线粒体生物发生和线粒体动力学密切相关,最终导致BMSC的成骨能力受损^[68]。在DMSC相关研究中,20 μ g/mL LPS刺激牙髓细胞(dental pulp cell, DPC) 24 h后线粒体动力学相关基因*Mfn*/*Drp1*的表达无明显变化^[69]。2022年亦有研究显示,用20 μ g/mL的LPS或20 μ g/mL LPS与400 μ mol/L H₂O₂共同刺激DPC 24 h均会导致*Drp1*表达升高,而*Mfn1/2*和*OPA1*表达水平无变化,线粒体形态并未发生明显变化^[70]。不同理化刺激对线粒体动力学的影响及调控机制还有待更深入的探讨。

五、结语

综上所述,线粒体动力学与干细胞的生存状态和命运决定紧密相关。线粒体的分裂和融合是一个复杂精巧的动态体系,它们的协同作用对MSC的自我更新、多系分化和应激反应均具有重要的调控作用。线粒体动力学调节有利于维持干细胞活力、促进分化、抗凋亡、抗衰老和抗应激损伤,其调控干细胞命运的机制包括能量代谢改变、氧化应激调节和钙稳态调节等,但这些调控途径如何介导线粒体动力学与MSC行为之间的相互作用还有待进一步阐明。探究在外源性刺激下DMSC线粒体动力学的调控机制,有望为组织再生修复提供一种新的研究策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

[1] Li B, Ouchi T, Cao Y, et al. Dental-derived mesenchymal stem cells: State of the art[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 654559. DOI:10.3389/fcell.2021.654559.

[2] Sharpe PT. Dental mesenchymal stem cells [J]. *Development*, 2016, 143(13):2273-2280. DOI:10.1242/dev.134189.

[3] van der Blik AM, Shen Q, Kawajiri S. Mechanisms of mitochondrial fission and fusion [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(6):a011072. DOI:10.1101/cshperspect.a011072.

[4] El-Hattab AW, Suleiman J, Almannai M, et al. Mitochondrial dynamics: Biological roles, molecular machinery, and related diseases [J]. *Mol Genet Metab*, 2018, 125(4):315-321. DOI:10.1016/j.ymgme.2018.10.003.

[5] Yu R, Lendahl U, Nistér M, et al. Regulation of mammalian mitochondrial dynamics: Opportunities and challenges [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 374. DOI:10.3389/fendo.2020.00374.

[6] Stiles L, Shirihai OS. Mitochondrial dynamics and morphology in beta-cells [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2012, 26(6):725-738. DOI:10.1016/j.beem.2012.05.004.

[7] Wai T, Langer T. Mitochondrial dynamics and metabolic regulation [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2016, 27(2):105-117. DOI:10.1016/j.tem.2015.12.001.

[8] Breitzig MT, Alleyn MD, Lockey RF, et al. A mitochondrial delicacy: Dynamin-related protein 1 and mitochondrial dynamics [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 315(1):C80-C90. DOI:10.1152/ajpcell.00042.2018.

[9] Zhao S, Heng N, Wang H, et al. Mitofusins: From mitochondria to fertility [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(7):1-19. DOI:10.1007/s00018-022-04386-z.

[10] Losón OC, Song Z, Chen H, et al. Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission [J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24(5):659-667. DOI:10.1091/mbc.E12-10-0721.

[11] Fröhlich C, Grabiger S, Schwefel D, et al. Structural insights into oligomerization and mitochondrial remodelling of dynamin 1-like protein [J]. *EMBO J*, 2013, 32(9):1280-1292. DOI:10.1038/emboj.2013.74.

[12] Lisa T, Shun N, Vincent P, et al. Mitochondrial dynamics: Overview of molecular mechanisms [J]. *Essays Biochem*, 2018, 62(3):341-360. DOI:10.1042/EBC20170104.

[13] Din S, Mason M, Völkers M, et al. Pim-1 preserves mitochondrial morphology by inhibiting dynamin-related protein 1 translocation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(15):5969-5974. DOI:10.1073/pnas.1213294110.

[14] Hu C, Huang Y, Li L. Drp1-dependent mitochondrial fission plays critical roles in physiological and pathological progresses in mammals [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(1):144. DOI:10.3390/ijms18010144.

[15] Lee JE, Westrate LM, Wu H, et al. Multiple dynamin family members collaborate to drive mitochondrial division [J]. *Nature*, 2016, 540(7631):139-143. DOI:10.1038/nature20555.

[16] Fonseca TB, Sánchez-Guerrero Á, Milosevic I, et al. Mitochondrial fission requires DRP1 but not dynamins [J]. *Nature*, 2019, 570(7761):E34-E42. DOI:10.1038/s41586-019-1296-y.

[17] Chandhok G, Lazarou M, Neumann B. Structure, function, and regulation of mitofusin - 2 in health and disease [J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2018, 93(2):933-949. DOI:10.1111/brv.12378.

[18] Brandt T, Cavellini L, Kühlbrandt W, et al. A mitofusin -

- dependent docking ring complex triggers mitochondrial fusion *in vitro* [J]. *Elife*, 2016, 5:e14618. DOI:10.7554/eLife.14618.
- [19] Sloat SR, Whitley BN, Engelhart EA, et al. Identification of a mitofusin specificity region that confers unique activities to Mfn1 and Mfn2 [J]. *Mol Biol Cell*, 2019, 30(17):2309-2319. DOI:10.1091/mbc.E19-05-0291.
- [20] Cipolat S, Martins de Brito D, Dal Zilio B, et al. OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(45):15927-15932. DOI:10.1073/pnas.0407043101.
- [21] Mattie S, Riemer J, Wideman JG, et al. A new mitofusin topology places the redox-regulated C terminus in the mitochondrial intermembrane space [J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(2):507-515. DOI:10.1083/jcb.201611194.
- [22] Gilkerson RW, Selker JML, Capaldi RA. The cristal membrane of mitochondria is the principal site of oxidative phosphorylation [J]. *FEBS Lett*, 2003, 546(2/3):355-358. DOI:10.1016/s0014-5793(03)00633-1.
- [23] Benincá C, Planagumà J, de Freitas Shuck A, et al. A new non-canonical pathway of Gαq protein regulating mitochondrial dynamics and bioenergetics [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(5):1135-1146. DOI:10.1016/j.cellsig.2014.01.009.
- [24] Khacho M, Tarabay M, Patten D, et al. Acidosis overrides oxygen deprivation to maintain mitochondrial function and cell survival [J]. *Nat Commun*, 2014, 5:3550. DOI:10.1038/ncomms4550.
- [25] Zhang H, Menzies KJ, Auwerx J. The role of mitochondria in stem cell fate and aging [J]. *Development*, 2018, 145(8):dev143420. DOI:10.1242/dev.143420.
- [26] Fu W, Liu Y, Yin H. Mitochondrial dynamics: Biogenesis, fission, fusion, and mitophagy in the regulation of stem cell behaviors [J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019:9757201. DOI:10.1155/2019/9757201.
- [27] Woods DC. Mitochondrial heterogeneity: Evaluating mitochondrial subpopulation dynamics in stem cells [J]. *Stem Cells Int*, 2017:7068567. DOI:10.1155/2017/7068567.
- [28] Folmes CD, Nelson TJ, Martinez-Fernandez A, et al. Somatic oxidative bioenergetics transitions into pluripotency-dependent glycolysis to facilitate nuclear reprogramming [J]. *Cell Metab*, 2011, 14(2):264-271. DOI:10.1016/j.cmet.2011.06.011.
- [29] Zhou W, Choi M, Margineantu D, et al. HIF1α induced switch from bivalent to exclusively glycolytic metabolism during ESC-to-EpiSC/hESC transition [J]. *EMBO J*, 2014, 31(9):2103-2116. DOI:10.1038/emboj.2012.71.
- [30] Ren L, Chen X, Chen X, et al. Mitochondrial dynamics: Fission and fusion in fate determination of mesenchymal stem cells [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8:580070. DOI:10.3389/fcell.2020.580070.
- [31] Sênos Demarco R, Uyemura BS, D'Alterio C, et al. Mitochondrial fusion regulates lipid homeostasis and stem cell maintenance in the *Drosophila testis* [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(6):710-720. DOI:10.1038/s41556-019-0332-3.
- [32] Khacho M, Clark A, Svoboda DS, et al. Mitochondrial dynamics impacts stem cell identity and fate decisions by regulating a nuclear transcriptional program [J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(2):232-247. DOI:10.1016/j.stem.2016.04.015.
- [33] Sperber H, Mathieu J, Wang Y, et al. The metabolome regulates the epigenetic landscape during naive - to - primed human embryonic stem cell transition [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(12):1523-1535. DOI:10.1038/ncb3264.
- [34] Lorenz C, Lesimple P, Bukowiecki R, et al. Human iPSC-derived neural progenitors are an effective drug discovery model for neurological mtDNA disorders [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(5):659. DOI:10.1016/j.stem.2016.12.013.
- [35] Feng X, Zhang W, Yin W, et al. The involvement of mitochondrial fission in maintenance of the stemness of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2019, 244(1):64-72. DOI:10.1177/1535370218821063.
- [36] Kato H, Thi Mai Pham T, Yamaza H, et al. Mitochondria regulate the differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth [J]. *Cell Struct Funct*, 2017, 42(2):105-116. DOI:10.1247/csf.17012.
- [37] Forni MF, Peloggia J, Trudeau K, et al. Murine mesenchymal stem cell commitment to differentiation is regulated by mitochondrial dynamics [J]. *Stem cells*, 2016, 34(3):743-755. DOI:10.1002/stem.2248.
- [38] Hoque A, Sivakumaran P, Bond ST, et al. Mitochondrial fission protein Drp1 inhibition promotes cardiac mesodermal differentiation of human pluripotent stem cells [J]. *Cell Death Discov*, 2018, 4(1):39. DOI:10.1038/s41420-018-0042-9.
- [39] Moqbel SAA, Zeng R, Ma D, et al. The effect of mitochondrial fusion on chondrogenic differentiation of cartilage progenitor/stem cells via Notch2 signal pathway [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1):1-17. DOI:10.1186/s13287-022-02758-7.
- [40] Hsu YC, Wu YT, Yu TH, et al. Mitochondria in mesenchymal stem cell biology and cell therapy: From cellular differentiation to mitochondrial transfer [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2016, 52:119-131. DOI:10.1016/j.semcdb.2016.02.011.
- [41] Li Q, Gao Z, Chen Y, et al. The role of mitochondria in osteogenic, adipogenic and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Protein Cell*, 2017, 8(6):439-445. DOI:10.1007/s13238-017-0385-7.
- [42] Wang L, Cheng L, Wang H, et al. Glycometabolic reprogramming associated with the initiation of human dental pulp stem cell differentiation [J]. *Cell Biol Int*, 2016, 40(3):308-317. DOI:10.1002/cbin.10568.
- [43] Chen H, Kang J, Zhang F, et al. SIRT4 regulates rat dental papilla cell differentiation by promoting mitochondrial functions [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2021, 134(46):105962. DOI:10.1016/j.biocel.2021.105962.
- [44] Jang YE, Go SH, Lee BN, et al. Changes in SIRT gene expression during odontoblastic differentiation of human dental pulp cells [J]. *Restor Dent Endod*, 2015, 40(3):223-228. DOI:10.5395/rde.2015.40.3.223.
- [45] Maity J, Deb M, Greene C, et al. KLF2 regulates dental pulp-derived stem cell differentiation through the induction of mitophagy and altering mitochondrial metabolism [J]. *Redox*

- Biol, 2020, 36: 101622. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101622.
- [46] Marycz K, Houston JMI, Weiss C, et al. 5 - azacytidine and resveratrol enhance chondrogenic differentiation of metabolic syndrome - derived mesenchymal stem cells by modulating autophagy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019; 1523140. DOI: 10.1155/2019/1523140.
- [47] Gomes LC, Scorrano L. High levels of Fis1, a pro - fission mitochondrial protein, trigger autophagy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1777 (7/8) : 860-866. DOI: 10.1016/j.bbabi.2008.05.442.
- [48] Zhong X, Cui P, Cai Y, et al. Mitochondrial dynamics is critical for the full pluripotency and embryonic developmental potential of pluripotent stem cells [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(4) : 979-992. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.11.007.
- [49] Maeda H. Aging and senescence of dental pulp and hard tissues of the tooth [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 605996. DOI: 10.1007/s12015-018-9809-x.
- [50] Pokrywczynska M, Maj M, Kloskowski T, et al. Molecular aspects of adipose-derived stromal cell senescence in a long-term culture: A potential role of inflammatory pathways [J]. *Cell Transplant*, 2020, 29: 963689720917341. DOI: 10.1177/0963689720917341.
- [51] Li X, Hong Y, He H, et al. FGF21 mediates mesenchymal stem cell senescence via regulation of mitochondrial dynamics [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019; 4915149. DOI: 10.1155/2019/4915149.
- [52] Yoon YS, Yoon DS, Lim IK, et al. Formation of elongated giant mitochondria in DFO-induced cellular senescence: Involvement of enhanced fusion process through modulation of Fis1 [J]. *J Cell Physiol*, 2006, 209(2) : 468-480. DOI: 10.1002/jcp.20753.
- [53] Morsczeck C. Cellular senescence in dental pulp stem cells [J]. *Arch Oral Biol*, 2019, 99: 150-155. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2019.01.012.
- [54] Lee JH, Yoon YM, Song KH, et al. Melatonin suppresses senescence - derived mitochondrial dysfunction in mesenchymal stem cells via the HSPA1L-mitophagy pathway [J]. *Aging Cell*, 2020, 19(3) : e13111. DOI: 10.1111/ace1.13111.
- [55] Stab BR, Laura M, Adriana G, et al. Mitochondrial functional changes characterization in young and senescent human adipose derived MSCs [J]. *Front Aging Neurosci*, 2016, 8: 299. DOI: 10.3389/fnagi.2016.00299.
- [56] Meyer JN, Leuthner TC, Luz AL. Mitochondrial fusion, fission, and mitochondrial toxicity [J]. *Toxicology*, 2017, 391: 42 - 53. DOI: 10.1016/j.tox.2017.07.019.
- [57] Srivastava A, Singh S, Rajpurohit CS, et al. Secretome of differentiated PC12 cells restores the monocrotophos - induced damages in human mesenchymal stem cells and SHSY-5Y cells: Role of autophagy and mitochondrial dynamics [J]. *Neuromolecular Med*, 2018, 20 (2) : 233 - 251. DOI: 10.1007/s12017-018-8487-9.
- [58] Ma L, Feng X, Wang K, et al. Dexamethasone promotes mesenchymal stem cell apoptosis and inhibits osteogenesis by disrupting mitochondrial dynamics [J]. *FEBS Open Bio*, 2020, 10(2) : 211-220. DOI: 10.1002/2211-5463.12771.
- [59] Rosdah AA, Bond ST, Sivakumaran P, et al. Mdivi-1 protects human W8B2 + cardiac stem cells from oxidative stress and simulated ischemia-reperfusion injury [J]. *Stem Cells Dev*, 2017, 26(24) : 1771-1780. DOI: 10.1089/scd.2017.0157.
- [60] He Y, Gan X, Zhang L, et al. CoCl₂ induces apoptosis via a ROS-dependent pathway and Drp1 - mediated mitochondria fission in periodontal ligament stem cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 315(3) : C389-C397. DOI: 10.1152/ajpcell.00248.2017.
- [61] Ježek J, Cooper KF, Strich R. Reactive oxygen species and mitochondrial dynamics: The yin and yang of mitochondrial dysfunction and cancer progression [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2018, 7(1) : 13. DOI: 10.3390/antiox7010013.
- [62] Gillmore T, Farrell A, Alahari S, et al. Dichotomy in hypoxia-induced mitochondrial fission in placental mesenchymal cells during development and preeclampsia: Consequences for trophoblast mitochondrial homeostasis [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(2) : 1-14. DOI: 10.1038/s41419-022-04641-y.
- [63] Li CJ, Sun LY, Pang CY. Synergistic Protection of N - acetylcysteine and ascorbic acid 2 - phosphate on human mesenchymal stem cells against mitoptosis, necroptosis and apoptosis [J]. *Sci Rep*, 2014, 5: 9819. DOI: 10.1038/srep09819.
- [64] Shi L, Ji Y, Zhao S, et al. Crosstalk between reactive oxygen species and Dynamin-related protein 1 in periodontitis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 172: 19-32. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.031.
- [65] Han Y, Chen Q, Zhang L, et al. Indispensable role of HIF-1 α signaling in post-implantation survival and angio-/vasculogenic properties of SHED [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 655073. DOI: 10.3389/fcell.2021.655073.
- [66] Patten DA, Ouellet M, Allan DS, et al. Mitochondrial adaptation in human mesenchymal stem cells following ionizing radiation [J]. *FASEB J*, 2019, 33(8) : 9263-9278. DOI: 10.1096/fj.2018.01483RRR.
- [67] Shen Y, Wu L, Wang J, et al. The role of mitochondria in methamphetamine - induced inhibitory effects on osteogenesis of mesenchymal stem cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 826: 56-65. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.02.049.
- [68] Shen Y, Wu L, Qin D, et al. Carbon black suppresses the osteogenesis of mesenchymal stem cells: The role of mitochondria [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2018, 15(1) : 16. DOI: 10.1186/s12989-018-0253-5.
- [69] Weekate K, Chuenjitkuntaworn B, Chuveera P, et al. Alterations of mitochondrial dynamics, inflammation and mineralization potential of lipopolysaccharide-induced human dental pulp cells after exposure to N-acetyl cysteine, Biodentine or ProRoot MTA [J]. *Int Endod J*, 2021, 54(6) : 951-965. DOI: 10.1111/iej.13484.
- [70] Vaseenon S, Srisuwan T, Chattipakorn N, et al. Lipopolysaccharides and hydrogen peroxide induce contrasting pathological conditions in dental pulpal cells [J]. *Int Endod J*, 2022. DOI: 10.1111/iej.13853.

(收稿日期:2022-06-07)

(本文编辑:王嫚)