

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.202308036



# 线粒体 DNA 拷贝数作为 生物标志物的研究前景

徐冬阳, 刁勇

(华侨大学 医学院, 福建 泉州 362021)

**摘要:** 线粒体是细胞内的能量工厂,参与多种重要生物学过程.线粒体脱氧核糖核酸(DNA)拷贝数在不同的组织器官和生理状态下具有巨大差异,与衰老、癌症及多种疾病密切相关,作为生物标志物在疾病诊断中具有重要的应用价值.对人体中线粒体 DNA 拷贝数的多样性,尤其是其在不同生理状况或疾病下的变化进行综述,探讨线粒体 DNA 拷贝数的生物学意义及其作为生物标志物的潜力.

**关键词:** 线粒体 DNA; 拷贝数; 衰老; 癌症; 生物标志物

**中图分类号:** Q 2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1000-5013(2023)05-0541-09

## Research Prospects of Mitochondrial DNA Copy Numbers as Biomarkers

XU Dongyang, DIAO Yong

(School of Medicine, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

**Abstract:** Mitochondrion is the powerhouse of the cell and participates in various crucial biological processes. The copy numbers of mitochondrial deoxyribonucleic acid (DNA) have significant variations across different organs, tissues and physiological states. It is closely associated with aging, cancers, and various diseases, thus holding significant application value as the biomarkers for disease diagnosis. An overview of the diversity in mitochondrial DNA copy numbers in the human body, especially its changes under different physiological conditions or diseases are conducted to explore the biological significance of mitochondrial DNA copy numbers as well as their potentiality as biomarkers.

**Keywords:** mitochondrial DNA; copy number; aging; cancer; biomarker

线粒体是一种重要的细胞器,是能量代谢和生物合成的关键场所,参与氧化还原稳态调节、信号转导、癌变、固有免疫、细胞凋亡和自噬等多种生物学过程<sup>[1-2]</sup>,并且与衰老<sup>[3-5]</sup>、癌症<sup>[2,6]</sup>,以及多种疾病<sup>[7]</sup>密切相关.人类的线粒体基因组为长度约 16.6 kb 的双链闭合环状脱氧核糖核酸(DNA),其基因排列紧凑,主要由 13 个蛋白编码基因、2 个 rRNA 基因、22 个 tRNA 基因,以及一段含有重(heavy, H)链复制起点的主非编码区域(major non-coding region, major NCR)和一段含有轻(light, L)链复制起点的次非编码区域(minor NCR)构成<sup>[8]</sup>.近年来,有研究发现,线粒体 DNA 还存在短开放阅读框(short open reading frame, sORF),可编码,被称为线粒体源肽(mitochondrial-derived peptides, MDPs)的小肽,参与多种生物学过程<sup>[9-11]</sup>.

**收稿日期:** 2023-08-03

**通信作者:** 徐冬阳(1988-),女,讲师,博士,主要从事基因组学的研究. E-mail: xudongyang@hqu.edu.cn.

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(32000441);福建省自然科学基金资助项目(2023J01130);华侨大学中青年教师科技创新资助计划项目(ZQN-924);华侨大学科研启动资助项目(18BS205)

大部分人类细胞中含有几百至几千个线粒体,每个线粒体的线粒 DNA 拷贝数约为 2~10. 线粒体 DNA 的拷贝数在不同个体及相同个体的不同组织和细胞中均有差异,且在不同生理条件下可发生变化. 线粒体 DNA 拷贝数的多样性和可变性可以反映多种生理状态和生物学过程,具有作为生物标志物的重要潜力. 本文对线粒体 DNA 拷贝数的多样性及其作为生物标志物的研究前景进行综述.

1 线粒体 DNA 拷贝数的多样性

1.1 线粒体 DNA 拷贝数在不同组织器官及生理条件下的差异

人类细胞中,细胞核基因组具有相对固定的拷贝数,而线粒体 DNA 的拷贝数则在不同组织中呈现出巨大的差异,从几百到数十万个不等. 人类细胞中,仅成熟红细胞不含线粒体 DNA. 在生殖细胞中,成熟卵母细胞的线粒体 DNA 拷贝数为 150 000 以上,比大部分体细胞高一个数量级以上,而精子细胞线粒体 DNA 拷贝数仅约为 100<sup>[12]</sup>. 线粒体 DNA 拷贝数在一定程度上与细胞能耗有关,例如,心脏和骨骼肌细胞等高耗能细胞平均线粒体 DNA 拷贝数为 3 000~6 000,而肝脏、肾脏和肺组织的线粒体 DNA 拷贝数为 500~2 000<sup>[13]</sup>.

线粒体 DNA 拷贝数还与性别和年龄相关,女性的线粒体 DNA 拷贝数略高于男性,而线粒体 DNA 拷贝数可随着年龄的增长而降低<sup>[14-15]</sup>. 线粒体 DNA 拷贝数与生理状况也紧密相关,一项人群分析研究显示,线粒体 DNA 拷贝数与腰臀比相关,但与身体质量指数(body mass index,BMI)无关,提示其可能与中心性肥胖和体脂分布相关<sup>[14]</sup>. 线粒体 DNA 拷贝数在不同的细胞生理条件下精确调节,可响应不同的内部或外部微环境,并发生变化.

1.2 线粒体 DNA 拷贝数与衰老的相关性

半个多世纪以前,研究人员首次提出了线粒体功能障碍与衰老之间的关联<sup>[16]</sup>. 时至今日,越来越多的研究证据表明,线粒体功能的减退在衰老过程中扮演重要角色,是与年龄相关疾病的促进因素之一<sup>[3-4,17]</sup>,而线粒体 DNA 突变则可引发早衰表现<sup>[18-19]</sup>.

近年来,多项人群研究试图从线粒体 DNA 拷贝数的角度揭示线粒体与衰老之间的关联. 随着人类年龄的增长,外周血细胞中的线粒体 DNA 拷贝数下降<sup>[20-21]</sup>. Zhang 等<sup>[20]</sup>通过对 1 511 名 17~85 岁女性人群的研究发现,外周血单核细胞中的线粒体 DNA 拷贝数平均每年以 0.40 的速度下降,同时伴随着线粒体 DNA 异质性的升高. Mengel-From 等<sup>[21]</sup>通过对 1 067 名 18~93 岁的志愿者进行研究发现,18~48 岁人群的外周血细胞中的线粒体 DNA 拷贝数相似,而 50 岁以上人群线粒体 DNA 拷贝数则以每年约 0.54 的速度下降;血液中线粒体 DNA 拷贝数与老年人的整体健康状况相关,线粒体 DNA 拷贝数较高的个体拥有更好的健康和存活状况,而线粒体 DNA 拷贝数较低的个体在认知、体力、自评健康等方面表现较差,且全因死亡率较高<sup>[21]</sup>. Lee 等<sup>[22]</sup>通过对 107 名表面健康老年女性(60 岁以上)的研究发现,外周血白细胞中的线粒体 DNA 拷贝数与认知功能呈正相关. Kim 等<sup>[23]</sup>对 142 名 60 岁以上的社区老年女性的研究发现,外周血白细胞中的线粒体 DNA 拷贝数与抑郁症呈现显著的负相关.

值得一提的是,不同的研究得出的结果并不总是一致的. 例如,Reiling 等<sup>[24]</sup>发现线粒体 DNA 拷贝数仅在男性中随着年龄增加而降低. 一些其他的研究则显示线粒体 DNA 拷贝数与年龄无相关性<sup>[25-26]</sup>. 这些差异可能源于研究人群、样品类型和统计分析方法的不同,以及样本数量限制等因素. 因此,更为系统及大规模的研究将有助于厘清和解释来自不同研究的差异.

1.3 线粒体 DNA 拷贝数与癌症的相关性

人类多种癌症中的线粒体 DNA 拷贝数存在异常<sup>[27]</sup>. Reznik 等<sup>[28]</sup>对癌症基因组图谱(cancer genome atlas,TCGA)计划中的 22 种癌症样本及相应的癌旁组织样本进行线粒体 DNA 拷贝数分析,发现许多癌症样本中的线粒体 DNA 拷贝数呈现下降趋势,尤其在膀胱癌、乳腺癌和肾癌中. 在其他研究中,线粒体 DNA 拷贝数在不同癌症中既可表现为异常升高<sup>[29-35]</sup>,也可表现为异常降低<sup>[36-39]</sup>. 由于不同类型的肿瘤中线粒体 DNA 拷贝数变化趋势不同,Lan 等<sup>[40]</sup>推测某些肿瘤中线粒体 DNA 拷贝数的增加并不仅仅是肿瘤细胞增殖能力增强的结果,而是具有肿瘤类型特异性.

线粒体 DNA 拷贝数异常被认为与癌症风险具有相关性<sup>[40-47]</sup>. Lan 等<sup>[40]</sup>通过对 ATBC(alpha-tocopherol,beta-carotene)癌症预防队列中的 104 例非霍奇金淋巴瘤患者及 104 例对照的研究发现,线粒

体 DNA 拷贝数与非霍奇金淋巴瘤患病风险存在剂量反应关系,线粒体 DNA 拷贝数的增加对应着较高的患癌风险.Xing 等<sup>[42]</sup>通过对 260 例肾细胞癌和 281 例对照的研究发现,肾细胞癌患者的线粒体 DNA 拷贝数显著低于对照,低线粒体 DNA 拷贝数与患癌风险的增加显著相关,且存在显著的剂量反应关系.Bonner 等<sup>[43]</sup>对云南省宣威地区的肺癌患病风险与线粒体 DNA 拷贝数的相关性进行研究,该地区烟煤的广泛使用成为肺癌的重要致病因素之一,而烟煤中含有的多环芳香烃会在基因组 DNA 上形成加合物,其中,多环芳香烃对线粒体 DNA 的亲 and 性比对细胞核 DNA 的亲 and 性高 40~90 倍,因而可能对线粒体 DNA 拷贝数产生影响;通过对 122 名患者和 121 名对照的唾液样本线粒体 DNA 拷贝数的检测发现,当细胞中线粒体 DNA 拷贝数大于 157 时,罹患肺癌的风险显著升高,且线粒体 DNA 拷贝数与肺癌风险的相关性在老年人群中更为显著.Yu 等<sup>[41]</sup>通过对 59 例浸润性乳腺肿瘤及配对的癌旁组织的分析发现,肿瘤组织中的线粒体 DNA 拷贝数显著低于癌旁组织,且降低的线粒体 DNA 拷贝数与较高的发病年龄及较高的组织学分级相关;线粒体 DNA 拷贝数降低的患者的无病生存率和总体生存率显著降低;D 环(displacement loop,D-loop)区域尤其是 H 链复制起点区域附近的突变可能是导致线粒体 DNA 拷贝数降低的关键因素.目前,大部分人群研究仅针对某一特定癌症群人群或者族裔,此类研究尽管对特定问题具有较高的针对性,其结论有时难以推广和应用于更为广泛的人群.因此,未来的研究一方面应涉足更多样化的人群,另一方面也应关注样本量,以及人群差异对研究结论的影响.

多年来,研究者们致力于寻找用于癌症预测和筛查的分子标志物,其中,大部分研究关注与细胞核 DNA 相关的遗传和表观遗传变化,而近年来研究发现的线粒体 DNA 拷贝数与患癌风险之间的相关性使线粒体 DNA 拷贝数有望成为新的癌症预测和诊断标志物,并且相较于基于细胞核 DNA 的方法有其独特优势,是众多研究者所关注的研究方向.

#### 1.4 线粒体 DNA 拷贝数与生育能力的相关性

已知线粒体功能异常影响生育能力,与线粒体相关的疗法可被用于延缓卵巢衰老及延长生殖寿命<sup>[48]</sup>.线粒体 DNA 拷贝数也在愈来愈多的研究中被认为与生育能力具有相关性.Wai 等<sup>[12]</sup>为探究线粒体 DNA 拷贝数对哺乳动物生育能力的影响,在小鼠中删除了一个拷贝的 *Tfam* 基因,人为降低线粒体 DNA 拷贝数,当卵母细胞的线粒体 DNA 拷贝数低至 4 000 时,仍可正常受精并在移植前发育至囊胚阶段,成熟卵母细胞植入后,可继续发育的阈值则为 40 000~50 000;形成鲜明对比的是,精子的线粒体 DNA 拷贝数降低 3 倍之后,仍具有正常的生育能力,甚至缺失 *Tfam* 等位基因的基因型更容易被遗传.这些结果表明,成熟卵母细胞需要维持较高的线粒体 DNA 拷贝数来维持后续发育,而精子细胞则需要通过下调线粒体 DNA 拷贝数维持正常的功能.文献[49-50]关于精子形成过程中线粒体基因表达的研究也支持了减少精子中线粒体 DNA 拷贝数是维持精子正常功能的重要调控过程的观点.May-Panloup 等<sup>[51]</sup>研究发现,卵巢功能不全患者的卵母细胞中线粒体 DNA 拷贝数平均下降约 3 倍.

此外,线粒体复制相关基因的缺陷会导致生育能力的下降<sup>[18,52-54]</sup>.线粒体 DNA 拷贝数与生育能力的相关性使其有望作为卵巢功能和胚胎发育质量的标志物,在生殖治疗中发挥作用.Fragouli 等<sup>[55]</sup>在一项研究中对 199 个囊胚进行分析,评估线粒体 DNA 拷贝数在体外受精(IVF)时作为胚胎质量筛选工具的适用性,发现所有正常着床的胚胎均具有正常或较少的线粒体 DNA 拷贝数,而有 16% 未着床胚胎中有较多的线粒体 DNA 拷贝数.这说明正常的线粒体 DNA 拷贝数尽管不能作为胚胎着床能力的标志,但是线粒体 DNA 拷贝数的增多却可用于筛查无法正常着床的胚胎<sup>[55]</sup>.在现阶段,线粒体 DNA 拷贝数作为生殖能力评估工具已展现出一定的潜力和临床价值,为达到成熟的临床应用,相关研究还有待进一步深入.

## 2 循环细胞游离线粒体 DNA

### 2.1 循环细胞游离线粒体 DNA 概述

循环细胞游离 DNA(circulating cell-free DNA,ccf DNA)是从细胞内释放到细胞外并进入循环系统的 DNA 分子,由于其具有易于获取和测量的特点,已在多种疾病中成为重要的无创诊断生物标志物<sup>[56]</sup>.线粒体 DNA 存在细胞外游离形式,被称为循环细胞游离线粒体 DNA(circulating cell-free mtDNA,ccf mtDNA).细胞损伤或应激可引发线粒体损伤相关分子模式(mitochondrial damage-associated

molecular pattern,DAMP)的释放,线粒体 DNA 在此过程中释放到细胞外空间,形成循环细胞游离线粒体 DNA<sup>[57]</sup>.循环细胞游离线粒体 DNA 存在于人类的血浆和血清中<sup>[58]</sup>,被认为与炎症性疾病、创伤性损伤、败血症、心肌梗死与癌症等多种疾病相关<sup>[59-67]</sup>,是新型生物标志物的潜在重要分子.

2.2 循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数与衰老的相关性

衰老被认为与慢性炎症有关,而循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数则被发现与炎症有紧密关联,因而循环细胞游离线粒体 DNA 被认为具有作为衰老及衰老相关疾病的生物标志物的潜能<sup>[57,67-68]</sup>.

Pinti 等<sup>[69]</sup>通过对 831 名志愿者(半数以上为 90~104 岁)血浆中的循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数的检测发现,志愿者在 50 岁之后逐渐增高.其中,具有最高血浆中循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数的志愿者的细胞炎症因子水平也相应最高,研究者据此推测循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数在维持老年人体内低程度慢性炎症方面发挥了作用<sup>[69]</sup>.在另一项研究中,Lazo 等<sup>[70]</sup>通过对数十名 30~64 岁人群的血浆中胞外囊泡中的循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数的定量分析发现,线粒体 DNA 拷贝数随着年龄的增加而降低.以上两项研究结论的不一致之处可能与受试者年龄段有关,前者的高龄人群比例显著高于后者.

Nidadavolu 等<sup>[71]</sup>以 672 名社区老年人为研究对象,发现血清中的炎症标志物与循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数呈正相关,并且两者的水平与生理和认知功能的损伤及死亡风险的增加有关.该研究提示了循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数与慢性炎症的相关性. Fan 等<sup>[72]</sup>通过对 65 岁及以上的老年人退行性病变肌少症的研究发现,血浆中循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数与肌少症显著相关,在肌少症患者中显著增加,且通过接收者操作特征(ROC)曲线分析可有效地区分出肌少症患者(曲线下面积为 0.726);循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数与细胞炎症因子水平存在正相关性,说明其可能与慢性炎症存在关联.以上研究表明,循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数可用于表征衰老与衰老相关疾病,其分子机制与细胞炎症反应密切相关.

2.3 循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数与癌症的相关性

循环细胞游离线粒体 DNA 存在于人体的血浆和血清中,具有易于检测的特性,适用于无创诊断,对于常规核心标志物水平正常的患者,基于循环细胞游离线粒体 DNA 的检测尤其具有特殊的意义.因此,近年来,循环细胞游离线粒体 DNA 在癌症诊断中的价值引起了广泛的研究兴趣.

Ellinger 等<sup>[73]</sup>发现上皮性卵巢癌患者的血浆中循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数相比于健康对照,以及其他卵巢良性疾病患者均显著增高;上皮性卵巢癌组与子宫内膜异位症组相比,尽管循环细胞游离核 DNA 无显著差异,循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数却存在显著性差异. Ellinger 等<sup>[74]</sup>通过对 74 例睾丸癌及 35 例健康对照的血清样品进行循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数的检测发现,睾丸癌患者的循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数显著高于健康对照,接收者操作特征曲线分析显示,循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数可用于区分癌症患者与健康对照(曲线下面积为 0.787),并且可以用于区分常规标志物正常的患者与健康对照(曲线下面积为 0.797),证明了循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数作为生物标志物对于常规标志物正常的患者具有重要的诊断价值.

Ellinger 等<sup>[75]</sup>发现循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数在泌尿系统恶性肿瘤患者的血清中显著增多,且可以用于区分癌症患者与健康对照,灵敏度和特异性分别达到 85%和 97%. Kohler 等<sup>[59]</sup>在一项针对乳腺癌的研究中发现,循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数在恶性与良性肿瘤患者中均显著低于健康对照,而使用接收者操作特征曲线分析可有效地通过循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数区分肿瘤患者与健康对照.以上研究显示了循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数在癌症诊断中的良好应用前景,也提示了循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数在不同类型的癌症中可能具有不同的变化趋势,是具有癌症类型特异性的指标.

2.4 循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数与精神疾病的相关性

循环细胞游离线粒体 DNA 不仅与生理应激有关,还与心理应激相关,据推测可能在压力作用下被释放到细胞外,可作为精神疾病诊断的潜在生物标志物.

Trumpff 等<sup>[76]</sup>对健康中年志愿者进行短暂的心理挑战试验,发现受试者血浆中的循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数增加 2~3 倍,说明循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数特异性与急性心理应激相关;体

外细胞实验显示,糖皮质激素信号作为人类心理压力的产物之一,可诱导线粒体 DNA 拷贝数的增加,推测神经内分泌信号是心理应激下循环细胞游离线粒体 DNA 释放的潜在触发因素。

Lindqvist 等<sup>[77]</sup>发现循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数是独立于细胞内线粒体 DNA 拷贝数的生物指标,重度抑郁症患者的血浆中循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数显著增加,而外周血单核细胞中的线粒体 DNA 拷贝数则无明显变化,说明两者指示了不同的生物学过程. Lindqvist 等<sup>[78]</sup>通过对 37 名自杀未遂者和 37 名健康对照的血浆中循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数的定量分析发现,自杀未遂者的循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数显著增加,推测其与下丘脑-垂体-肾上腺轴的负反馈受损有关. Lindqvist 等<sup>[79]</sup>后续通过对 46 名社交恐惧症患者和 42 名健康对照的血浆中循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数的检测发现,社交恐惧症患者的循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数显著少于健康对照;并且在认知行为疗法治疗后,循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数无显著变化,且与焦虑症状的严重程度无关,推测社交恐惧症患者可能是由于长期的心理压力导致循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数的减少。

值得一提的是,循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数在精神疾病中并非总是呈现上升趋势,不同研究者均在抑郁症人群中观察到了血浆中循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数显著减少的情况<sup>[80-81]</sup>,说明在不同的精神疾病中,循环细胞游离线粒体 DNA 拷贝数可能存在不同的作用机制,有待于研究者的进一步揭示。

### 3 结束语

线粒体作为一种重要的细胞器,在人类的疾病和健康中扮演重要角色. 线粒体 DNA 拷贝数作为一种易于检测的指标,被发现在衰老、癌症及其他多种疾病中具有特异性变化,是一种极具潜力的无创诊断生物标志物. 目前,针对线粒体 DNA 拷贝数的相关研究主要集中于特定的疾病类型和人群,这些研究尽管得出了一些重要结论,其普适性还有待验证. 在多种疾病类型中进行更为大规模和系统性的研究将有助于厘清先前研究中存在的一定程度的不一致性,增加线粒体 DNA 拷贝数作为生物标志物在临床上应用的可行性. 此外,线粒体 DNA 拷贝数在衰老和疾病中的特异性变化的内在生物学机制还有待于被进一步揭示,从而更深入地理解线粒体及线粒体 DNA 拷贝数在疾病和健康中的作用。

### 参考文献:

- [1] NUNNARI J, SUOMALAINEN A. Mitochondria: In sickness and in health[J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1145-1159. DOI: 10.1016/j.cell.2012.02.035.
- [2] ZONG Weixing, RABINOWITZ J D, WHITE E. Mitochondria and cancer[J]. *Molecular Cell*, 2016, 61(5): 667-676. DOI: 10.1016/j.molcel.2016.02.011.
- [3] LÓPEZ-OTÍN C, BLASCO M A, PARTRIDGE L, *et al.* The hallmarks of aging[J]. *Cell*, 2013, 153(6): 1194-1217. DOI: 10.1016/j.cell.2013.05.039.
- [4] PARK C B, LARSSON N G. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2011, 193(5): 809-818. DOI: 10.1083/jcb.201010024.
- [5] KAUPPILA T E S, KAUPPILA J H K, LARSSON N G. Mammalian mitochondria and aging: An update[J]. *Cell Metabolism*, 2017, 25(1): 57-71. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.09.017.
- [6] WALLACE D C. Mitochondria and cancer[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12(10): 685-698. DOI: 10.1038/nrc3365.
- [7] CHAN D C. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease[J]. *Annual Review of Pathology*, 2020, 15: 235-259. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032711.
- [8] FALKENBERG M. Mitochondrial DNA replication in mammalian cells: Overview of the pathway[J]. *Essays in Biochemistry*, 2018, 62(3): 287-296. DOI: 10.1042/EBC20170100.
- [9] LEE C, YEN K, COHEN P. Humanin: A harbinger of mitochondrial-derived peptides[J]. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2013, 24(5): 222-228. DOI: 10.1016/j.tem.2013.01.005.
- [10] KIM S J, XIAO Jialin, WAN Junxiang, *et al.* Mitochondrially derived peptides as novel regulators of metabolism[J]. *The Journal of Physiology*, 2017, 595(21): 6613-6621. DOI: 10.1113/JP274472.

- [11] REYNOLDS J C, LAI R W, WOODHEAD J S T, *et al.* MOTS-c is an exercise-induced mitochondrial-encoded regulator of age-dependent physical decline and muscle homeostasis[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 470. DOI:10.1038/s41467-020-20790-0.
- [12] WAI T, AO A, ZHANG Xiaoyun, *et al.* The role of mitochondrial DNA copy number in mammalian fertility[J]. *Biology of Reproduction*, 2010, 83(1): 52-62. DOI:10.1095/biolreprod.109.080887.
- [13] D'ERCHIA A M, ATLANTE A, GADALETA G, *et al.* Tissue-specific mtDNA abundance from exome data and its correlation with mitochondrial transcription, mass and respiratory activity[J]. *Mitochondrion*, 2015, 20: 13-21. DOI:10.1016/j.mito.2014.10.005.
- [14] DING Jun, SIDORE C, BUTLER T J, *et al.* Assessing mitochondrial DNA variation and copy number in lymphocytes of 2,000 Sardinians using tailored sequencing analysis tools[J]. *PLoS Genetics*, 2015, 11(7): e1005306. DOI:10.1371/journal.pgen.1005306.
- [15] ASHAR F N, MOES A, MOORE A Z, *et al.* Association of mitochondrial DNA levels with frailty and all-cause mortality[J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2015, 93(2): 177-186. DOI:10.1007/s00109-014-1233-3.
- [16] HARMAN D. The free radical theory of aging; Effect of age on serum copper levels[J]. *Journal of Gerontology*, 1965, 20: 151-153. DOI:10.1093/geronj/20.2.151.
- [17] KUJOTH G C, HIONA A, PUGH T D, *et al.* Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging[J]. *Science*, 2005, 309(5733): 481-484. DOI:10.1126/science.1112125.
- [18] TRIFUNOVIC A, WREDENBERG A, FALKENBERG M, *et al.* Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase[J]. *Nature*, 2004, 429(6990): 417-423. DOI:10.1038/nature02517.
- [19] ROSS J M, STEWART J B, HAGSTRÖM E, *et al.* Germline mitochondrial DNA mutations aggravate ageing and can impair brain development[J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 412-415. DOI:10.1038/nature12474.
- [20] ZHANG Ruoyu, WANG Yiqin, YE Kaixiong, *et al.* Independent impacts of aging on mitochondrial DNA quantity and quality in humans[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 890. DOI:10.1186/s12864-017-4287-0.
- [21] MENGEL-FROM J, THINGGAARD M, DALGÅRD C, *et al.* Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood cells declines with age and is associated with general health among elderly[J]. *Human Genetics*, 2014, 133(9): 1149-1159. DOI:10.1007/s00439-014-1458-9.
- [22] LEE J W, PARK K D, IM J A, *et al.* Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood is associated with cognitive function in apparently healthy elderly women[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2010, 411(7/8): 592-596. DOI:10.1016/j.cca.2010.01.024.
- [23] KIM M Y, LEE J W, KANG H C, *et al.* Leukocyte mitochondrial DNA (mtDNA) content is associated with depression in old women[J]. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 2011, 53(2): e218-e221. DOI:10.1016/j.archger.2010.11.019.
- [24] REILING E, LING C, UITTERLINDEN A G, *et al.* The association of mitochondrial content with prevalent and incident type 2 diabetes[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2010, 95(4): 1909-1915. DOI:10.1210/jc.2009-1775.
- [25] MILLER F J, ROSENFELDT F L, ZHANG Chunfang, *et al.* Precise determination of mitochondrial DNA copy number in human skeletal and cardiac muscle by a PCR-based assay: Lack of change of copy number with age[J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(11): e61. DOI:10.1093/nar/gng060.
- [26] FRAHM T, MOHAMED S A, BRUSE P, *et al.* Lack of age-related increase of mitochondrial DNA amount in brain, skeletal muscle and human heart[J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2005, 126(11): 1192-1200. DOI:10.1016/j.mad.2005.06.008.
- [27] YU Man. Generation, function and diagnostic value of mitochondrial DNA copy number alterations in human cancers[J]. *Life Sciences*, 2011, 89(3/4): 65-71. DOI:10.1016/j.lfs.2011.05.010.
- [28] REZNIK E, MILLER M L, ŞENBABAĞLU Y, *et al.* Mitochondrial DNA copy number variation across human cancers[J]. *ELife*, 2016, 5: e10769. DOI:10.7554/eLife.10769.
- [29] KIM M M, CLINGER J D, MASAYESVA B G, *et al.* Mitochondrial DNA quantity increases with histopathologic grade in premalignant and malignant head and neck lesions[J]. *Clinical Cancer Research*, 2004, 10(24): 8512-8515. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-04-0734.
- [30] CAREW J S, NAWROCKI S T, XU R H, *et al.* Increased mitochondrial biogenesis in primary leukemia cells: The

- role of endogenous nitric oxide and impact on sensitivity to fludarabine[J]. *Leukemia*, 2004, 18(12): 1934-1940. DOI:10.1038/sj.leu.2403545.
- [31] WANG Yue, LIU V W S, XUE Weicheng, *et al.* The increase of mitochondrial DNA content in endometrial adenocarcinoma cells: A quantitative study using laser-captured microdissected tissues[J]. *Gynecologic Oncology*, 2005, 98(1): 104-110. DOI:10.1016/j.ygyno.2005.04.015.
- [32] MAMBO E, CHATTERJEE A, XING Mingzhao, *et al.* Tumor-specific changes in mtDNA content in human cancer [J]. *International Journal of Cancer*, 2005, 116(6): 920-924. DOI:10.1002/ijc.21110.
- [33] JEON J P, SHIM S M, NAM H Y, *et al.* Copy number increase of 1p36.33 and mitochondrial genome amplification in Epstein-Barr virus-transformed lymphoblastoid cell lines[J]. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2007, 173(2): 122-130. DOI:10.1016/j.cancergencyto.2006.10.010.
- [34] MIZUMACHI T, MUSKHELISHVILI L, NAITO A, *et al.* Increased distributional variance of mitochondrial DNA content associated with prostate cancer cells as compared with normal prostate cells[J]. *The Prostate*, 2008, 68(4): 408-417. DOI:10.1002/pros.20697.
- [35] LIN Chensung, CHANG Shichuan, WANG Liangshun, *et al.* The role of mitochondrial DNA alterations in esophageal squamous cell carcinomas[J]. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2010, 139(1): 189-197. DOI:10.1016/j.jtcvs.2009.04.007.
- [36] MEIERHOFER D, MAYR J A, FOETSCHL U, *et al.* Decrease of mitochondrial DNA content and energy metabolism in renal cell carcinoma[J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(6): 1005-1010. DOI:10.1093/carcin/bgh104.
- [37] YAMADA S, NOMOTO S, FUJII T, *et al.* Correlation between copy number of mitochondrial DNA and clinicopathologic parameters of hepatocellular carcinoma[J]. *European Journal of Surgical Oncology*, 2006, 32(3): 303-307. DOI:10.1016/j.ejso.2006.01.002.
- [38] FAN A X C, RADPOUR R, HAGHIGHI M M, *et al.* Mitochondrial DNA content in paired normal and cancerous breast tissue samples from patients with breast cancer[J]. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2009, 135(8): 983-989. DOI:10.1007/s00432-008-0533-9.
- [39] YU Man, WAN Yanfang, ZOU Qinghua. Decreased copy number of mitochondrial DNA in Ewing's sarcoma[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2010, 411(9/10): 679-683. DOI:10.1016/j.cca.2010.01.035.
- [40] LAN Qing, LIM U, LIU C S, *et al.* A prospective study of mitochondrial DNA copy number and risk of non-Hodgkin lymphoma[J]. *Blood*, 2008, 112(10): 4247-4249. DOI:10.1182/blood-2008-05-157974.
- [41] YU Man, ZHOU Yunli, SHI Yurong, *et al.* Reduced mitochondrial DNA copy number is correlated with tumor progression and prognosis in Chinese breast cancer patients[J]. *IUBMB Life*, 2007, 59(7): 450-457. DOI:10.1080/15216540701509955.
- [42] XING Jinliang, CHEN Meng, WOOD C G, *et al.* Mitochondrial DNA content: Its genetic heritability and association with renal cell carcinoma[J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2008, 100(15): 1104-1112. DOI:10.1093/jnci/djn213.
- [43] BONNER M R, SHEN Min, LIU C S, *et al.* Mitochondrial DNA content and lung cancer risk in Xuan Wei, China [J]. *Lung Cancer*, 2009, 63(3): 331-334. DOI:10.1016/j.lungcan.2008.06.012.
- [44] SHEN Jie, PLATEK M, MAHASNEH A, *et al.* Mitochondrial copy number and risk of breast cancer: A pilot study[J]. *Mitochondrion*, 2010, 10(1): 62-68. DOI:10.1016/j.mito.2009.09.004.
- [45] HOSGOOD H D, LIU C S, ROTHMAN N, *et al.* Mitochondrial DNA copy number and lung cancer risk in a prospective cohort study[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(5): 847-849. DOI:10.1093/carcin/bgq045.
- [46] QU Falin, LIU Xiaonan, ZHOU Feng, *et al.* Association between mitochondrial DNA content in leukocytes and colorectal cancer risk: A case-control analysis[J]. *Cancer*, 2011, 117(14): 3148-3155. DOI:10.1002/cncr.25906.
- [47] THYAGARAJAN B, WANG Renwei, NELSON H, *et al.* Mitochondrial DNA copy number is associated with breast cancer risk[J]. *PloS One*, 2013, 8(6): e65968. DOI:10.1371/journal.pone.0065968.
- [48] CHIANG J L, SHUKLA P, PAGIDAS K, *et al.* Mitochondria in ovarian aging and reproductive longevity[J]. *Ageing Research Reviews*, 2020, 63: 101168. DOI:10.1016/j.arr.2020.101168.
- [49] RANTANEN A, JANSSEN M, OLDFORS A, *et al.* Downregulation of *Tfam* and mtDNA copy number during mammalian spermatogenesis[J]. *Mammalian Genome*, 2001, 12(10): 787-792. DOI:10.1007/s00335-001-2052-8.
- [50] AMARAL A, RAMALHO-SANTOS J, ST JOHN J C. The expression of polymerase gamma and mitochondrial

- transcription factor A and the regulation of mitochondrial DNA content in mature human sperm[J]. *Human Reproduction*, 2007, 22(6): 1585-1596. DOI: 10. 1093/humrep/dem030.
- [51] MAY-PANLOUP P, CHRÉTIEN M F, JACQUES C, *et al.* Low oocyte mitochondrial DNA content in ovarian insufficiency[J]. *Human Reproduction*, 2005, 20(3): 593-597. DOI: 10. 1093/humrep/deh667.
- [52] VAN GOETHEM G, DERMAUT B, LÖFGREN A, *et al.* Mutation of POLG is associated with progressive external ophthalmoplegia characterized by mtDNA deletions[J]. *Nature Genetics*, 2001, 28(3): 211-212. DOI: 10. 1038/90034.
- [53] LUOMA P, MELBERG A, RINNE J O, *et al.* Parkinsonism, premature menopause, and mitochondrial DNA polymerase gamma mutations: Clinical and molecular genetic study[J]. *Lancet*, 364(9437): 875-882. DOI: 10. 1016/S0140-6736(04)16983-3.
- [54] PAGNAMENTA A T, TAANMAN J W, WILSON C J, *et al.* Dominant inheritance of premature ovarian failure associated with mutant mitochondrial DNA polymerase gamma[J]. *Human Reproduction*, 2006, 21(10): 2467-2473. DOI: 10. 1093/humrep/del076.
- [55] FRAGOULI E, MCCAFFREY C, RAVICHANDRAN K, *et al.* Clinical implications of mitochondrial DNA quantification on pregnancy outcomes: A blinded prospective non-selection study[J]. *Human Reproduction*, 2017, 32(11): 2340-2347. DOI: 10. 1093/humrep/dex292.
- [56] AUCAMP J, BRONKHORST A J, BADENHORST C P S, *et al.* The diverse origins of circulating cell-free DNA in the human body: A critical re-evaluation of the literature[J]. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 2018, 93(3): 1649-1683. DOI: 10. 1111/brv. 12413. Epub 2018 Apr 14.
- [57] NOREN-HOOTEN N, EVANS M K. Mitochondria as extracellular vesicle cargo in aging[J]. *Aging*, 2021, 13(14): 17957-17958. DOI: 10. 18632/aging. 203358.
- [58] YU Man. Circulating cell-free mitochondrial DNA as a novel cancer biomarker: Opportunities and challenges[J]. *Mitochondrial DNA*, 2012, 23(5): 329-332. DOI: 10. 3109/19401736. 2012. 696625.
- [59] KOHLER C, RADPOUR R, BAREKATI Z, *et al.* Levels of plasma circulating cell free nuclear and mitochondrial DNA as potential biomarkers for breast tumors[J]. *Molecular Cancer*, 2009, 8: 105. DOI: 10. 1186/1476-4598-8-105.
- [60] ZHANG Qin, RAOOF M, CHEN Yu, *et al.* Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury[J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 104-107. DOI: 10. 1038/nature08780.
- [61] KRYSKO D V, AGOSTINIS P, KRYSKO O, *et al.* Emerging role of damage-associated molecular patterns derived from mitochondria in inflammation[J]. *Trends in Immunology*, 2011, 32(4): 157-164. DOI: 10. 1016/j. it. 2011. 01. 005.
- [62] SCHWARZENBACH H, HOON D S B, PANTEL K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2011, 11(6): 426-437. DOI: 10. 1038/nrc3066.
- [63] BLIKSØEN M, MARIERO L H, OHM I K, *et al.* Increased circulating mitochondrial DNA after myocardial infarction[J]. *International Journal of Cardiology*, 2012, 158(1): 132-134. DOI: 10. 1016/j. ijcard. 2012. 04. 047.
- [64] DWIVEDI D J, TOLTL L J, SWYSTUN L L, *et al.* Prognostic utility and characterization of cell-free DNA in patients with severe sepsis[J]. *Critical Care*, 2012, 16(4): R151. DOI: 10. 1186/cc11466.
- [65] GU Xiaoling, YAO Yanwen, WU Guannan, *et al.* The plasma mitochondrial DNA is an independent predictor for post-traumatic systemic inflammatory response syndrome[J]. *PloS One*, 2013, 8(8): e72834. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0072834.
- [66] NAKAHIRA K, KYUNG S Y, ROGERS A J, *et al.* Circulating mitochondrial DNA in patients in the ICU as a marker of mortality: Derivation and validation[J]. *PLoS Medicine*, 2013, 10(12): e1001577. DOI: 10. 1371/journal.pmed. 1001577.
- [67] BOYAPATI R K, TAMBORSKA A, DORWARD D A, *et al.* Advances in the understanding of mitochondrial DNA as a pathogenic factor in inflammatory diseases[J]. *F1000Research*, 2017, 6: 169. DOI: 10. 12688/f1000research. 10397. 1.
- [68] KENNEDY B K, BERGER S L, BRUNET A, *et al.* Geroscience: Linking aging to chronic disease[J]. *Cell*, 2014, 159(4): 709-713. DOI: 10. 1016/j. cell. 2014. 10. 039.
- [69] PINTI M, CEVENINI E, NASI M, *et al.* Circulating mitochondrial DNA increases with age and is a familiar trait:



- Implications for ‘inflamm-aging’[J]. *European Journal of Immunology*, 2014, 44(5): 1552-1562. DOI: 10. 1002/eji. 201343921.
- [70] LAZO S, NOREN H N, GREEN J, *et al.* Mitochondrial DNA in extracellular vesicles declines with age[J]. *Aging Cell*, 2021, 20(1): e13283. DOI: 10. 1111/accel. 13283.
- [71] NIDADAVOLU L S, FEGER D, CHEN Diefei, *et al.* Associations between circulating cell-free mitochondrial DNA, inflammatory markers, and cognitive and physical outcomes in community dwelling older adults[J]. *Immunity and Ageing*, 2023, 20(1): 24. DOI: 10. 1186/s12979-023-00342-y.
- [72] FAN Zhen, YANG Jingyu, GUO Yi, *et al.* Altered levels of circulating mitochondrial DNA in elderly people with sarcopenia: Association with mitochondrial impairment[J]. *Experimental Gerontology*, 2022, 163: 111802. DOI: 10. 1016/j. exger. 2022. 111802.
- [73] ELLINGER J, MÜLLER S C, WERNERT N, *et al.* Mitochondrial DNA in serum of patients with prostate cancer: A predictor of biochemical recurrence after prostatectomy[J]. *BJU International*, 2008, 102(5): 628-632. DOI: 10. 1111/j. 1464-410X. 2008. 07613. x.
- [74] ELLINGER J, ALBERS P, MÜLLER S C, *et al.* Circulating mitochondrial DNA in the serum of patients with testicular germ cell cancer as a novel noninvasive diagnostic biomarker[J]. *BJU International*, 2009, 104(1): 48-52. DOI: 10. 1111/j. 1464-410X. 2008. 08289. x.
- [75] ELLINGER J, MÜLLER D C, MÜLLER S C, *et al.* Circulating mitochondrial DNA in serum: A universal diagnostic biomarker for patients with urological malignancies[J]. *Urologic Oncology*, 2012, 30(4): 509-515. DOI: 10. 1016/j. urolonc. 2010. 03. 004.
- [76] TRUMPF C, MARSLAND A L, BASUALTO-ALARCÓN C, *et al.* Acute psychological stress increases serum circulating cell-free mitochondrial DNA[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2019, 106: 268-276. DOI: 10. 1016/j. psyn-euen. 2019. 03. 026.
- [77] LINDQVIST D, WOLKOWITZ O M, PICARD M, *et al.* Circulating cell-free mitochondrial DNA, but not leukocyte mitochondrial DNA copy number, is elevated in major depressive disorder[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2018, 43(7): 1557-1564. DOI: 10. 1038/s41386-017-0001-9.
- [78] LINDQVIST D, FERNSTRÖM J, GRUDET C, *et al.* Increased plasma levels of circulating cell-free mitochondrial DNA in suicide attempters: Associations with HPA-axis hyperactivity[J]. *Translational Psychiatry*, 2016, 6(12): e971. DOI: 10. 1038/tp. 2016. 236.
- [79] LINDQVIST D, FURMARK T, LAVEBRATT C, *et al.* Plasma circulating cell-free mitochondrial DNA in social anxiety disorder[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2023, 148: 106001. DOI: 10. 1016/j. psyneuen. 2022. 106001.
- [80] KAGEYAMA Y, KASAHARA T, KATO M, *et al.* The relationship between circulating mitochondrial DNA and inflammatory cytokines in patients with major depression[J]. *Journal of Affective Disorders*, 2018, 233: 15-20. DOI: 10. 1016/j. jad. 2017. 06. 001.
- [81] FERNSTRÖM J, OHLSSON L, ASP M, *et al.* Plasma circulating cell-free mitochondrial DNA in depressive disorders[J]. *PloS One*, 2021, 16(11): e0259591. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0259591.

(责任编辑: 陈志贤      英文审校: 刘源岗)