

细胞自噬与凋亡相互作用分子机制的研究进展

张 杨¹, 孙弯弯², 陆丽丹³, 冯晓玲^{1*}

(1. 黑龙江中医药大学附属第一医院 妇科, 黑龙江 哈尔滨 150036; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040;
3. 南京中医药大学常熟附属医院, 江苏 常熟 215500)

摘要:细胞自噬与细胞凋亡是两个不同的生理现象,但其在功能上有着密切的联系。本文主要介绍细胞自噬和凋亡的分类及发生过程,并就自噬体形成过程中的一些关键调节蛋白以及凋亡和抗凋亡蛋白的双重作用对自噬和凋亡的影响进行论述,从而探讨细胞自噬与凋亡之间的关系,以期为进一步研究自噬与凋亡相关疾病提供理论基础。

关键词:分子机制;自噬相关基因(Atg);caspase

中图分类号:R329 文献标志码:A

Research progress on molecular mechanism of the interaction between autophagy and apoptosis

ZHANG Yang¹, SUN Wan-wan², LU Li-dan³, FENG Xiao-ling^{1*}

(1. Department of Gynecology, the First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150036;
2. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040; 3. Changshu Hospital Affiliated to Nanjing University of
Chinese Medicine, Changshu 215500, China)

Abstract: Autophagy and apoptosis are two different physiological phenomena, however they are closely related in function. This paper introduces the classification and process of autophagy and apoptosis, and discusses the effects of some key regulatory proteins in the formation of autophagosome and the dual role of apoptosis and anti-apoptosis proteins on autophagy and apoptosis, so as to explore the relationship between autophagy and apoptosis, and to provide theoretical basis for further study of autophagy and apoptosis related diseases.

Key words: molecular mechanism; autophagy-related gene(Atg); caspase

1 自噬的分类及过程(图1)

自噬(autophagy)是真核细胞所特有的现象。广义的自噬包括4种形式:微自噬,分子伴侣介导的自噬、非典型自噬及巨自噬,本文主要论述巨自噬。

在哺乳动物中经典自噬途径有5个阶段,即启动、成核、伸长、溶酶体融合以及自噬体内容物的降

解。自噬的启动开始于unc-51样自噬激活激酶1(unc-51 like autophagy activating kinase,ULK1)激酶复合物的激活。ULK1作为一种细胞质激酶,是自噬相关基因1(autophagy-related gene1,Atg1)在哺乳动物中的同源蛋白,它与黏着斑激酶家族相互作用蛋白(FAK family-interacting protein of 200 ku, FIP200)、自噬相关基因Atg13和Atg101相互作用形

收稿日期:2020-06-08 修回日期:2020-10-15

基金项目:中国博士后科学基金(2019M661320);国家自然科学基金(81973894);

*通信作者(corresponding author):doctorfxl@163.com

成 ULK1 复合物^[1]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 的抑制和/或腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 的活化直接调控 ULK1 复合物的活性^[1]。ULK1 活化促进具有 III 类磷脂酰肌醇 3-激酶 (class III phosphoinositide 3-kinase, PI3K-III 又称 PIK3C3) 活性的多蛋白复合物的募集。Beclin-1 是 ULK1 的下游直接靶点,它调节 PI3K-III 催化单元空泡分选蛋白 34 (vacuolar protein sorting34, Vps34) 的脂质激酶活性, Vps34 产生磷脂酰肌醇 3-磷酸 [phosphatidylinositol 3-phosphate, PI(3)P], 使许多参与自噬体成核的自噬蛋白得以募集,从而形成 Vps34-Vps15-Beclin-1 复合物。当自噬被诱导发生时, Vps34-Vps15-Beclin-1 能够和多种自噬相关蛋白结合,传递自噬信号并促进自噬的发生^[2]。成核阶段,细胞器的双层膜结构在待降解物质周围包绕形成分隔膜。其间, p62 作为自噬衔接蛋白,将功能失调和过剩的线粒体带到自噬体,随后通过结合微管相关蛋白 1 轻链 3 (protein light chain3, LC3) 将这些线粒体困在自噬体中。分隔膜继续弯曲伸长,并完全包绕细胞质,形成完整的双

层膜结构的自噬体。自噬体与胞内体融合形成自噬内涵体,然后再与溶酶体融合,形成自噬溶酶体,或者自噬体直接与溶酶体融合形成自噬溶酶体。

2 凋亡的分类及过程(图 1)

凋亡 (apoptosis) 也是细胞程序性死亡的一种类型。凋亡过程分为外源性途径和内源性途径^[3]。外源性凋亡途径又称为死亡受体途径,因细胞外微环境的改变而触发,当细胞外死亡配体激活质膜上的死亡受体,外源性凋亡便启动。其过程依赖死亡诱导信号复合物 (death-inducing signalling complex, DISC) 的形成, DISC 中激活的半胱氨酸蛋白酶 caspase-8 和 10 通过 caspase-3 的裂解触发 caspase 级联反应,最终通过切割多种细胞靶标导致细胞死亡。内源性和外源性途径均导致 caspase-3 激活^[4]。内源性途径又称为线粒体途径,其关键步骤是线粒体外膜通透化 (mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP), 这个过程能够从线粒体膜间空间释放促凋亡因子,如细胞色素 C。细胞色素 C 被释放到胞质溶胶中,与凋亡肽酶激活因子-1 (apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1) 及三磷

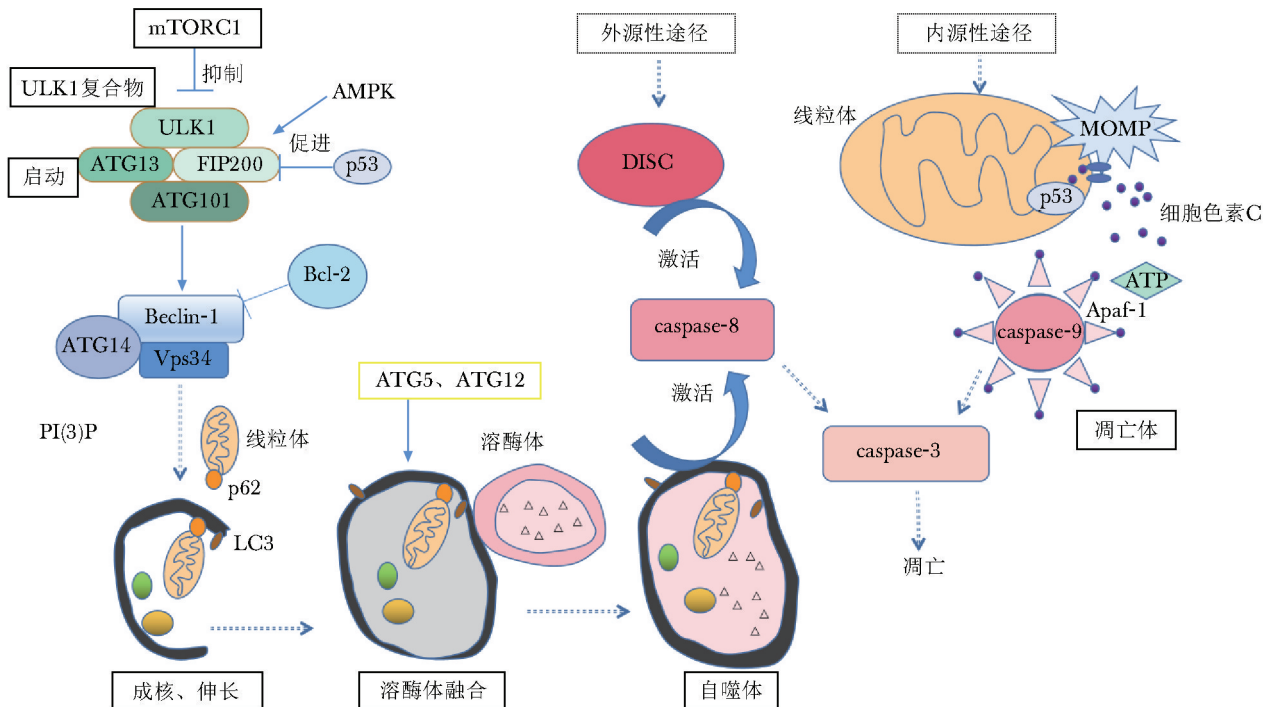


图 1 自噬和凋亡过程

Fig 1 Process of autophagy and apoptosis

腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)^[5]结合,推动形成一种称为“凋亡体”的蛋白质复合物,该复合物诱导 caspase-9 的活化。Caspase-9 的活化激活 caspase-3 及 caspase-7,最终导致细胞因被 caspase 切割而亡。

3 自噬与凋亡的相互关系

细胞自噬和凋亡的关系是错综复杂的,在病毒感染、饥饿等应激条件下,细胞自噬被诱导发生,而持续应激时,细胞凋亡则被激活,两者之间的转换条件和机制仍在不断探索中,而自噬和凋亡过程中涉及的关键调节蛋白的双重调节作用成为近年来研究两者关系的重点。

3.1 自噬调节凋亡

自噬可以抑制或增强细胞凋亡,或诱导独立于凋亡的细胞死亡,这取决于细胞类型、刺激的类型和持续时间^[6]。自噬体形成过程中,自噬蛋白 ATG12 和 ATG5 在泛素化样过程中共价结合,但最近发现,即使没有 ATG 结合系统,也可以形成自噬体,尽管速率降低^[7]。另外,ATG5 和 ATG12 在不同应激信号引起的细胞凋亡中也起着关键作用,ATG12 和 ATG5 的非结合形式有助于诱导细胞凋亡。在凋亡细胞中,ATG5 被钙蛋白酶切割,导致其 N-端片段转移到线粒体,并在线粒体中,通过与促生存的 B 细胞淋巴瘤-2(B cell lymphoma-2, Bcl-2)家族成员特大 B 细胞淋巴瘤(B cell lymphoma extra large, Bcl-xL)相互作用,介导细胞色素 C 的释放^[8]。非共轭型 ATG12 可结合 Bcl-2 家族蛋白,从而促进细胞凋亡^[9]。

前面提到,Beclin-1 是自噬体形成过程不可或缺的调节蛋白,同时,它也对凋亡起着调控作用。Beclin-1 是 Bcl-2 家族中的 BH3-only 蛋白。定位于内质网的 Bcl-2 通常与 Beclin-1 通过 Beclin-1 的 BH3 结构域持续结合,从而抑制自噬的发生。Beclin-1 被 caspase 裂解而失去诱导自噬的能力,目前已知 caspase-3、-6、-7、-8、-9 和-10 可以对 Beclin-1 进行剪切^[10]。之后,其 C-末端片段易位至线粒体,并在体外渗透分离的线粒体,导致细胞色素 C 的释放,从而使细胞对细胞凋亡敏感。因而,Beclin-1 对细胞凋亡和自噬起着双重调控作用。

而 caspases 的激活依赖自噬体的形成,并参与

自噬的调节^[10],它还可以通过裂解细胞中的功能蛋白致使细胞凋亡^[11]。Caspases 被招募到自噬体中,而自噬体作为细胞内激活它们的平台。在被招募到自噬体的过程中,泛素化 caspase-8 通过 p62 的泛素结合域 UBD 与 p62 结合,随后 p62 和 LC3 直接相互作用从而被招募到自噬体。重要的是,p62 不仅可以招募 caspase-8 到自噬体中,还能够激活 caspase-8。而 p62 介导的线粒体聚类破坏是导致细胞凋亡加剧的原因^[12]。

另外,细胞凋亡受自噬降解过程的影响,干扰自噬体的形成或溶酶体的活动都可能影响凋亡过程,比如自噬清除受损的线粒体从而增加细胞凋亡诱导的阈值^[13],又如,caspase-8 被招募到自噬体中,还主要参与了肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)诱导的细胞凋亡,因而通过降解活化的 caspase-8 可以限制细胞凋亡。另外,CMA 可通过降解肝细胞内脂滴(lipid drople, LD)相关脂滴包被蛋白 2(perilipin2, PLIN2)调节脂质分解从而改善足细胞内脂质集聚和凋亡^[14]。总而言之,自噬对凋亡的调节主要是通过自噬过程中相关蛋白与凋亡蛋白之间相互作用来实现的。

3.2 凋亡调节自噬

凋亡机制的组成部分可以通过与自噬蛋白相互作用直接影响自噬。破坏凋亡蛋白 Bcl-2 与 Beclin-1 的复合物可以增加哺乳动物自噬,如截断的 BH3 相互作用域死亡激动剂(truncated-BH3-interacting domain death agonist, tBID)、Bcl-2 细胞死亡拮抗剂(Bcl-2 antagonist of cell death, BAD)和 Bcl-2 与腺病毒 E1B 19 ku 蛋白相互作用蛋白 3(Bcl-2 and adenovirus E1B 19 ku protein-interacting protein 3, BNIP3)等其他 Bcl-2 家族蛋白能够竞争性置换 Beclin-1 BH3 结构域^[13],从而增加自噬。另外,Bcl-2 和 Beclin-1 的磷酸化也是导致两者解离的重要因素^[13]。

细胞死亡的 Bcl-2 相互作用介质(Bcl-2-interacting mediator of cell death, BIM)是 Bcl-2 家族中的一种仅有 BH3 结构域的 Bcl-2 家族蛋白(the Bcl-2 homology domain 3-only, BH3-only),具有促凋亡作用。另外,BIM 被证明是自噬的抑制剂,在静息细胞中,BIM 通过与自噬调节因子 Beclin-1 相互作

用抑制自噬^[6]。

FADD样白细胞介素 β 转换酶(FADD-like interleukin beta-converting enzyme, FLICE)样抑制物蛋白(FLICE like inhibitor protein, Flip)是一种抗凋亡蛋白,参与抑制死亡受体介导的凋亡。FlipS和FlipL是Flip的两个亚型,FlipS通过抑制caspase-8丝状体的形成来抑制细胞凋亡。FlipL通过抑制caspase-8的成熟和释放抑制细胞凋亡^[15]。但当Flip水平较低时,caspase-8同源二聚化并通过蛋白裂解激活自身,导致活化的caspase-8释放并启动凋亡。另外,Flip蛋白内的不同区域控制其抗自噬和抗凋亡活性,可同时抑制自噬和凋亡。FlipL通过与LC3竞争结合ATG3来抑制自噬^[16],除了这种自噬的直接调节外,FlipL还通过与前caspase-10的相互作用影响自噬^[17]。

p53是一种凋亡调节因子,可通过两种机制诱导细胞凋亡,首先,p53作为转录因子分别诱导和抑制促凋亡靶基因和抗凋亡靶基因。其次,p53能够转移到线粒体,与Bcl-2家族成员相互作用,诱导线

粒体膜通透化和细胞色素C的释放^[18]。P53通常存在于胞质中,可在DNA损伤后转移到细胞核中^[19],现有证据表明^[20],核p53是一种促自噬因子,它通过转录依赖的方式调控mTOR通路来诱导自噬。但在细胞质中,p53却抑制自噬的诱导,胞质中的p53通过与FIP200相互作用来抑制自噬,从而阻止ULK1-FIP200-ATG13-ATG101复合物的激活并抑制自噬体的形成^[21]。

4 问题与展望

综上所述,细胞的自噬与凋亡是两个密切相关的复杂过程,自噬和凋亡过程中的关键调节蛋白能够通过直接或间接作用而达到对自噬和凋亡的双重调节,但是两者之间互相转换的机制以及相关调节蛋白对细胞命运的影响仍需要进一步明确。近年来,越来越多的文献研究两者在抑制或促进肿瘤细胞增殖过程中的作用,因此,更好的了解细胞自噬和凋亡将对疾病的认识和治疗至关重要。

参考文献:

- [1] Maria Z, IZachari M, Ganley IG. The mammalian ULK1 complex and autophagy initiation [J]. *Essays Biochem*, 2017, 61: 585-596.
- [2] Mcknight NC, Yue Z. Beclin 1, an essential component and master regulator of PI3K-III in health and disease [J]. *Curr Pathobiol Rep*, 2013, 1: 231-238.
- [3] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, *et al.* Molecular mechanisms of cell death; recommendations of the nomenclature committee on cell death 2018 [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25: 486-541.
- [4] Nagata S. Apoptosis and clearance of apoptotic cells [J]. *Annu Rev Immunol*, 2018, 36: 489-517.
- [5] Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, *et al.* Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade [J]. *Cell*, 1997, 91: 479-489.
- [6] Delgado M, Tesfaiji Y. BH3-only proteins, Bmf and Bim, in autophagy [J]. *Cell Cycle*, 2013, 12: 3453-3454.
- [7] Kuma A, Komatsu M, Mizushima N. Autophagy-monitoring and autophagy-deficient mice [J]. *Autophagy*, 2017, 13: 1619-1628.
- [8] Lepine S, Allegood JC, Edmonds Y, *et al.* Autophagy induced by deficiency of sphingosine-1-phosphate phosphohydrolase 1 is switched to apoptosis by calpain-mediated autophagy-related gene 5 (Atg5) cleavage [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286:44380-44390.
- [9] Ma X, Liu Y, Muhammad W, *et al.* Autophagy-related protein 12 associates with anti-apoptotic B cell lymphoma-2 to promote apoptosis in gentamicin-induced inner ear hair cell loss [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15: 3819-3825.
- [10] Tsapras P, Nezis IP. Caspase involvement in autophagy [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24: 1369-1379.
- [11] Julien O, Wells JA. Caspases and their substrates [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24: 1380-1389.
- [12] Xiao B, Deng X, Lim GG Y, *et al.* p62-Mediated mitochondrial clustering attenuates apoptosis induced by mitochondrial depolarization [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2017, 1864: 1308-1317.
- [13] Booth LA, Tavallai S, Hamed HA, *et al.* The role of cell signalling in the crosstalk between autophagy and

- apoptosis[J]. *Cell Signal*, 2014, 26: 549-555.
- [14] 徐凌珂. 分子伴侣介导的自噬通过降解 PLIN2 改善棕榈酸诱导的足细胞脂质集聚和凋亡[D]. 重庆:重庆医科大学, 2019:20-26.
- [15] Tummers B, Green DR. Caspase-8: regulating life and death[J]. *Immunol Rev*, 2017, 277: 76-89.
- [16] Rubinstein AD, Kimchi A. Life in the balance-a mechanistic view of the crosstalk between autophagy and apoptosis[J]. *J Cell Sci*, 2012, 125: 5259-5268.
- [17] Smyth P, Sessler T, Scott CJ, *et al.* FLIP (L): the pseudo-caspase[J]. *FEBS J*, 2020;1-15
- [18] Castrogiovanni C, Waterschoot B, De Backer O, *et al.* Serine 392 phosphorylation modulates p53 mitochondrial translocation and transcription-independent apoptosis[J]. *Cell Death & Differentiation*, 2018, 25: 190-203.
- [19] Kruse JP, Gu W. Modes of p53 Regulation [J]. *Cell*, 2009, 137: 609-622.
- [20] Denisenko TV, Pivnyuk AD, Zhivotovsky B. p53-autophagy-metastasis link[J]. *Cancers*, 2018, 10: 148: 1-20.
- [21] Marino G, Niso-Santano M, Baehrecke EH, *et al.* Self-consumption: the interplay of autophagy and apoptosis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15: 81-94.

