

## 综述

## 自噬的分子细胞机制研究进展

方梦蝶 刘波 刘伟\*

(浙江大学医学部, 生物化学与分子生物学系, 杭州 310058)

**摘要** 自噬是真核细胞中进化上高度保守的、用于降解和回收利用细胞内生物大分子和受损细胞器的过程。自噬的完成依赖于正常的溶酶体功能, 与机体的多种生理和病理过程密切相关。自噬研究已成为当前生命科学研究的热点, 揭示自噬的发生机制、自噬与疾病发生的关系对预防与治疗多种人类重大疾病具有重要意义。该文旨在概括目前自噬的研究进展, 重点介绍细胞自噬的发生机制及其与疾病的关系。

**关键词** 自噬; 自噬泡; 溶酶体; 肿瘤

## 1 引言

维持正常的物质代谢平衡是保证一切生命活动顺利进行的基础。真核细胞内物质的分解代谢主要有两条途径: 泛素蛋白酶体途径和自噬(autophagy)途径<sup>[1]</sup>。泛素蛋白酶体途径以待降解蛋白质的泛素化为标志, 并最终通过蛋白酶体将其分解。此途径主要选择性地降解细胞内的短效蛋白质<sup>[2]</sup>。细胞内的长效大分子及受损的细胞器则主要通过自噬途径降解。研究表明, 正常的自噬过程对细胞内环境的稳定及细胞生命活动的顺利进行十分重要<sup>[1]</sup>。发育过程中, 自噬障碍严重影响胚胎细胞的正常分化和胚胎发育<sup>[3]</sup>。细胞自噬还与许多疾病的发生密切相关, 如神经退行性疾病、癌症、病原微生物感染等。

## 2 自噬的定义及分类

自噬是真核生物中一种进化上高度保守的、用于降解和回收利用细胞内生物大分子和受损细胞器的过程。自噬大致被分为以下三种: 宏自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy)。最早观测到的自噬现象是宏自噬。1956年, Clark<sup>[4]</sup>用电镜观察新生小鼠肾组织时发现细胞中含有大量具有膜性结构的致密体, 而且其中常含有类似于线粒体等的胞质结构。在1963年的溶酶体国际会议上, Christian de Duve将这种细胞中存在的包裹细胞质和细胞器的膜泡发生现象定义为自噬。目前, 对自噬的研究主要集中在宏自噬, 其机制也最为清楚, 常被人们狭义

地等同为细胞自噬<sup>[1,5]</sup>; 而微自噬则是胞内物质直接通过溶酶体膜的内陷被吞噬, 并形成溶酶体内膜泡, 这种内膜泡将其包裹物释放到溶酶体中降解<sup>[6]</sup>; 分子伴侣介导的自噬是一种特异性地含有KFERQ模序蛋白质的蛋白质降解途径, 这些含KFERQ模序的蛋白质可被分子伴侣HSC70识别并通过LAMP2A蛋白转运入溶酶体中被降解<sup>[7]</sup>。虽然三种细胞自噬的发生方式各不相同, 但在细胞应对外界刺激、清除受损物质过程中共同发挥着重要的作用。

另外, 根据细胞所处环境及自噬发生的程度不同, 细胞自噬还可分为基础自噬和诱导自噬。基础自噬是一种在大多数细胞中持续发生而水平相对较低的细胞自噬过程, 对细胞内物质的更新及细胞内环境稳态的维持具有不可或缺的作用<sup>[8]</sup>。例如: 基础自噬被阻碍将导致神经元中泛素化蛋白质的积累, 从而引发神经元变性, 造成神经退行性疾病<sup>[9]</sup>。在小鼠肝脏中特异敲除自噬基因*Atg7*(autophagy related gene 7)能明显引起肝癌的形成<sup>[10]</sup>。与基础自噬相比, 诱导自噬的发生程度明显强烈, 是细胞应对外界刺激的一种保护反应。缺少营养物质或能量、受到氧胁迫等情况下, 细胞的自噬水平在短时间内剧烈升高, 如哺乳动物出生后初期, 由于母体不再提供营养来源, 幼体的细胞自噬非常活跃, 这为维持其生命活

收稿日期: 2011-12-05 接受日期: 2012-02-03

钱江人才计划(No.2010R10059)和国家重点基础研究发展计划(973)项目(No.2011CB910101)资助项目

\*通讯作者。Tel/Fax: 0571-88208357, E-mail: liuwei666@zju.edu.cn

动起了非常重要的作用<sup>[3]</sup>。

### 3 自噬发生的过程

自噬发生需要经过以下几个阶段: 自噬前体形

成; 自噬前体延长包裹自噬的底物, 自噬泡形成; 自噬泡与溶酶体融合完成底物降解<sup>[5]</sup>(图1)。

首先, 在自噬起始信号的调控下, 细胞质中形成杯状的双层膜结构的自噬前体<sup>[11]</sup>; 然后, 自噬前体在

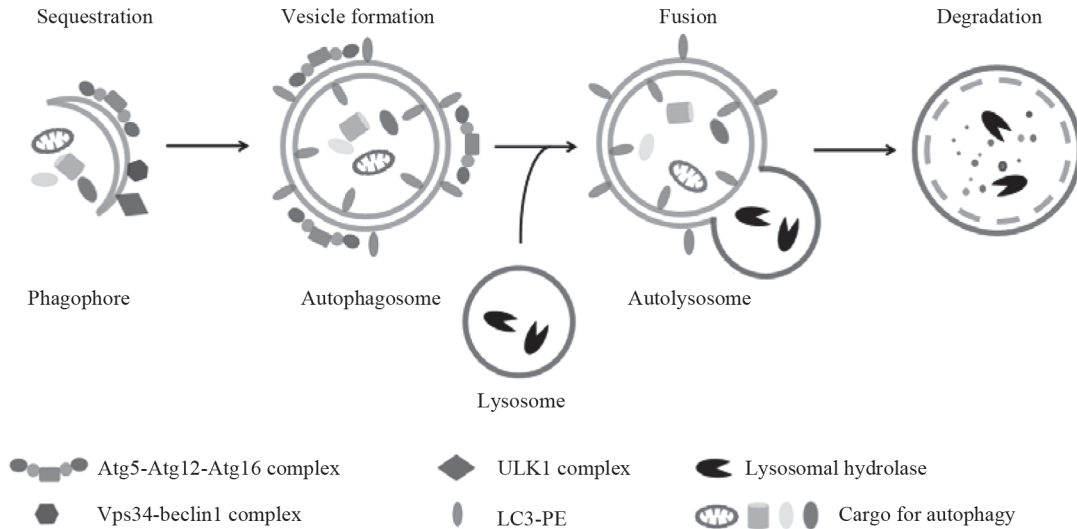


图1 自噬过程示意图

Fig.1 Schematic model of autophagy

一些自噬蛋白的作用下逐渐延长, 如伴随此过程的LC3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, 自噬蛋白Atg8在哺乳动物中的同源物)不断被募集到自噬前体上, 对自噬前体的延伸起着关键的调节作用<sup>[11]</sup>。延长的自噬前体, 包裹降解底物, 最终形成完全闭合的自噬泡<sup>[12]</sup>。研究表明, p62蛋白(sequestosome-1)对降解底物的识别和包裹起着关键作用<sup>[13]</sup>。最后, 自噬泡通过胞内运输系统到达溶酶体, 自噬泡外膜和溶酶体膜融合, 并在溶酶体的水解酶作用下将其包裹物降解。自噬泡与溶酶体的融合标志着自噬泡的完全成熟。自噬泡在到达溶酶体之前也可能先和多泡体(multivesicular body, MVB)融合<sup>[14]</sup>。另外, 自噬底物降解完成后, 自噬溶酶体上伸出一个管状结构, 管状结构可以从顶端断裂形成原溶酶体, 并接受新的溶酶体水解酶, 最终形成成熟的溶酶体, 完成溶酶体再生<sup>[15]</sup>。

随着人们对自噬发生过程研究的不断深入, 新的自噬相关蛋白和调控模型不断被提出, 但仍有许多重要环节有待明确, 如: 有关自噬泡膜来源的问题依然存在很大争议, 不同的研究认为自噬泡的膜来源于不同的细胞内结构, 如内质网<sup>[16]</sup>、高尔基体<sup>[17]</sup>、

线粒体外膜<sup>[18]</sup>和细胞膜<sup>[19]</sup>等。因此, 一种可能的解释是细胞在以自噬方式应对不同刺激时, 其自噬前体膜的来源也是多样的。如当自噬泡清除来自内质网的底物时其部分膜来源于内质网, 而清除来自线粒体的底物时部分膜则可能来自于线粒体。另外, 关于参与自噬前体膜弯曲和闭合的分子及其作用机制的报道还很少, 自噬泡如何弯曲包裹底物, 如何完成最终的闭合、形成完整的自噬泡仍不清楚。

### 4 自噬的调控

精确的自噬信号调控, 对细胞应对不同的外界刺激至关重要。基础自噬与诱导自噬的发生都受到细胞的严密调节, 使其在维持内环境稳定和应对突如其来刺激时变化自如。目前, 作为自噬调控的中心分子TOR(target of rapamycin)是控制细胞自噬的关键蛋白, 能感受细胞的多种变化信号, 加强或降低自噬的发生水平。细胞内ATP水平、缺氧等细胞信号都可直接或间接通过TOR将其整合, 从而改变细胞的自噬发生, 应对不同的外界环境刺激<sup>[20]</sup>。

TOR本身是一个调控细胞周期、生长和增殖的丝氨酸/苏氨酸激酶。正常情况下, TOR通过抑制

自噬起始分子Atg1的活性,实现对自噬的控制<sup>[20]</sup>。在哺乳动物中TOR的同源物mTOR(mammalian target of rapamycin)处于活化状态,磷酸化抑制自噬起始分子ULK1的功能,抑制自噬的发生。TOR/mTOR能形成TORC1/mTORC1和TORC2/mTORC2两种复合物。mTORC1包括mTOR、mLST8(也称为类G蛋白β亚基蛋白GβL)、PRAS40(Proline-rich Akt substrate 40 kDa)和Raptor(regulatory-associated protein of mTOR)。Raptor是对Rapamycin药物敏感的组成成分<sup>[21]</sup>,所以Rapamycin常被用于自噬的研究,通过特异抑制mTORC1的活性而诱发自噬。另外,mTORC1还通过4E-BP1(eukaryotic initiation factor 4E binding protein 1)和S6K1(ribosomal p70 S6 kinase 1)调控蛋白合成和核糖体的生物发生来调节细胞生长和增殖<sup>[21]</sup>。mTORC2包括mTOR、mSin1(mammalian stress-activated protein kinase-interacting protein 1)、Rictor(rapamycin insensitive companion of mTOR)和Protor(protein observed with rictor),而Rictor对Rapamycin不敏感。mTORC2通过磷酸化Akt(蛋白激酶B)和PKC(蛋白激酶C),传递信号到小GTP酶Rac1和RhoA,参与调节细胞骨架的形成<sup>[22]</sup>。但关于mTORC2和自噬的关系却鲜有报道。

AMPK(adenosine 5'-monophosphate(AMP)-activated protein kinase)是细胞中感受能量状态调节代谢的一个蛋白激酶,在自噬发生的调控中也发挥着重要的作用。低ATP水平状态下(如饥饿或缺氧)AMPK能感受AMP的水平变化而激活,从而磷酸化TSC2(tuberous sclerosis proteins,一种肿瘤抑制蛋白,可以和Rheb GTP酶结合,避免后者对mTOR的活化),加剧TSC1/2对Rheb的抑制,最终使mTOR的活性被抑制,诱导细胞发生自噬<sup>[23]</sup>。另外也有研究表明,AMPK能直接磷酸化Raptor并抑制其活性,导致mTORC1的活性下降<sup>[24]</sup>。TSC1/2还可以整合来自PI3K-AKT和Raf-1-MEK1/2-ERK1/2的信号,传递至mTORC1。如受到生长因子等信号刺激时,Akt被激活,从而磷酸化TSC2并抑制其与TSC1的结合,Raf-1-MEK1/2-ERK1/2也可抑制TSC1/TSC2,最终激活Rheb-mTORC1,对细胞自噬的发生起抑制作用<sup>[25]</sup>。

## 5 自噬相关分子

自噬的整个过程中,时刻都受到不同的自噬相关蛋白的调控。这些自噬相关蛋白由自噬基因

(autophagy-related gene, *Atg*)编码,迄今已有34个被成功克隆。这些自噬基因在酵母和哺乳动物中有很好的保守性,是自噬发生必不可少的分子。几乎任何一种自噬基因的缺失或突变都会导致自噬不能发生或者发生异常<sup>[26]</sup>。随着人们对自噬认识的加深,越来越多的自噬基因及其同源物的功能也被逐渐揭示。其中一些核心自噬蛋白的功能已经研究得比较清楚。根据其参与自噬发生的不同阶段,这些核心的自噬蛋白被分为五类:Atg1/ULK1蛋白激酶复合体、Vps34-Atg6/Beclin1和III型PI3K复合体、Atg9/mAtg9、Atg5-Atg12-Atg16连接系统和Atg8/LC3连接系统。

### 5.1 Atg1/ULK1蛋白激酶复合体

*Atg1*是第一个在酵母中被成功克隆的自噬基因,编码一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶<sup>[27]</sup>,与其哺乳动物中同源蛋白ULK1一样,是自噬泡形成所必需的一种蛋白质。ULK1激酶活性缺失时LC3-II不能形成,自噬发生受到阻碍<sup>[28]</sup>。ULK1以复合物的形式存在,除了ULK1本身,还包括mAtg13、FIP200(一种与黏着斑激酶FAK相互作用的蛋白)和Atg101。这些蛋白质与ULK1的相互作用对维持ULK1的稳定性和激酶活性十分重要。ULK1复合物直接接受自噬中心调控分子mTOR的调节。营养物质缺乏时,mTOR活性被抑制,mTOR对ULK1和mAtg13的磷酸化抑制作用减弱,使得ULK1激活并磷酸化mAtg13、FIP200和ULK1自身<sup>[29]</sup>,从而开启自噬发生的第一步。之后,ULK1/2、ATG13、FIP200从细胞质转移到内质网或其他特定位置,形成自噬发生的原核,并进而募集下游的PI3K复合物、LC3分子等产生自噬泡<sup>[30]</sup>。在营养能量缺乏时,AMPK也可以通过磷酸化ULK1激活其活性,从而进一步促进自噬;当营养物质充分时,mTOR则通过磷酸化ULK1,阻止AMPK对ULK1的磷酸化激活,使ULK1被抑制,避免自噬的发生<sup>[31]</sup>。

### 5.2 Vps34/PI3K-Beclin1复合物

Vps34是哺乳动物中的第III类PI3 Kinase。在Vps34复合物中,Vps34因结合Vps15而被激活,并进一步结合Beclin1形成Vps34-Vps15-Beclin1复合物<sup>[32]</sup>。自噬发生时,Vps34-Vps15-Beclin1和多种自噬相关蛋白结合,传递自噬信号促进自噬发生。如与Atg14结合形成Atg14-Vps34-Vps15-Beclin1复合物参与自噬泡的形成<sup>[33]</sup>;与胚胎神经发育相关分子Ambra1结合促进Beclin1诱导自噬的能力<sup>[34]</sup>;与



UVRAG(UV irradiation resistance-associated gene)结合形成UVRAG-Vps34-Vps15-Beclin1在自噬泡成熟和运输中起作用<sup>[35]</sup>。Rubicon与UVRAG-Vps34-Vps15-Beclin1复合物结合后负调节其功能<sup>[36]</sup>。Bif-1通过与UVRAG和Beclin1结合正调控其对自噬泡形成的功能<sup>[37]</sup>。Vps34/PI3K-Beclin1复合物促进产生磷脂酰肌醇-3-磷酸(PI3P), PI3P可以组装一些含有PX和FYVE结构域的蛋白质到早期自噬泡产生的位置, 如DFCP1(double FYVE-containing protein 1)和WIPI家族蛋白(WD-repeat domain protein interacting with phosphoinositides)<sup>[38]</sup>, 促使自噬前体的形成。线虫中*epg-3*、*epg-4*基因突变可造成DFCP-1标记的结构和自噬前体增多、自噬泡增大。EGP-3蛋白可能通过调节PI3P的水平控制自噬前体的产生, 而EGP-4在更早的阶段, 可能在内质网膜形成初生的自噬前体过程中起作用<sup>[39]</sup>。目前, Vps34复合物和mTOR的关系以及Vps34的激酶活性如何被调控依然不清楚。部分研究表明, Vps34可以介导饥饿信号对mTOR的抑制<sup>[40]</sup>。在果蝇中, Vps34的活性依赖于TOR-Atg1信号通路, 提示Vps34受TOR调控在自噬泡形成中发挥作用<sup>[41]</sup>。Vps34的活性也可以被某些膜结合蛋白(如Rab5)激活, 调控Vps34复合物组装到自噬泡形成部位<sup>[42]</sup>。此外, Rab5还可以和Vps34复合物结合, 帮助Vps34组装到内吞小泡上, 这个过程可能用来产生PI3P, 利于内吞小泡的形成<sup>[43]</sup>。

### 5.3 Atg9/mAtg9

Atg9是迄今发现的唯一一个编码跨膜蛋白的Atg基因, 可能通过影响膜泡运输对自噬发生起调控作用。在酵母中, Atg9循环于PAS(preautophagosomal structure, 定位于酵母中靠近液泡的一个位置, 可能是一个隔离膜组装的结构, 在自噬时许多Atg蛋白会被募集到PAS<sup>[44]</sup>)和线粒体或与线粒体联系的膜泡之间<sup>[45]</sup>, 可能为自噬泡的形成提供膜来源。营养物质缺乏时, Atg9与Atg23、Atg27结合, 将它们运输至PAS; 或在Atg1和Atg13的帮助下与Atg2、Atg18结合将其反向运输到PAS以外的细胞质区域<sup>[46]</sup>。在哺乳动物中, 特异性沉默*mAtg9*基因能抑制自噬泡的形成和蛋白质的降解, 阻碍自噬的发生。营养物质充足时, mAtg9定位于反面高尔基体(trans-Golgi network, TGN)和晚期内体(late endosome)上, 可能对两者之间的物质循环发挥运输功能; 而当细胞饥饿时, mAtg9的定位依赖于ULK1和PI3K的活性, 从反面高尔基体转移到晚期

内体和自噬泡上, 与小GTP酶蛋白Rab7、LC3发生部分共定位<sup>[47]</sup>, 提示mAtg9可能作为一个膜蛋白介导自噬相关蛋白或自噬泡膜的运输。

### 5.4 Atg5-Atg12-Atg16连接系统

自噬发生过程中有两组类泛素化修饰过程, 分别发生在Atg5-Atg12-Atg16连接系统和Atg8/LC3连接系统中, 用于隔离膜的延长和自噬泡的形成。在Atg5-Atg12-Atg16连接系统中, Atg12的C端甘氨酸残基首先由类E1泛素活化酶Atg7活化, 与Atg7的Cys507形成高能硫酯键<sup>[48]</sup>; 然后Atg12被传递给类E2泛素转移酶Atg10, 与Atg10的Cys133形成硫酯键<sup>[49]</sup>; 最后, Atg12被传递到Atg5, 与Atg5的Lys149共价结合形成Atg12-Atg5复合物<sup>[50]</sup>。细胞中Atg12蛋白一旦合成就会立即结合Atg5, 以Atg12-Atg5复合物的形式存在<sup>[50]</sup>。自噬发生时, Atg16和Atg12-Atg5结合。Atg16含有一个螺旋卷曲结构易于形成低聚物, 使得其能把更多的Atg12-Atg5连接起来形成巨大复合物。哺乳动物中Atg16L蛋白C端还含有一个WD氨基酸重复的结构域, 使得Atg16L更利于蛋白质间的相互作用, 有时甚至能使其形成约800 kDa的Atg5-Atg12-Atg16复合物, 从而可能为参与自噬泡形成的蛋白质提供相互作用的平台。自噬发生时, 此复合物定位于隔离膜上, 参与LC3-II的形成过程, 从而促进自噬泡膜的延长<sup>[51]</sup>。

### 5.5 Atg8/LC3连接系统

LC3是酵母Atg8分子在哺乳动物中的同源物之一, Atg8的其他同源物还有GABARAP和GATE-16等。LC3、GABARAP和GATE16对自噬泡膜的延长和融合发挥着不同的功能, 是自噬泡形成所必需的<sup>[52]</sup>。和其他Atg8同源分子相比, LC3是研究得最清楚的一个, 已被用作自噬发生的一个标志蛋白。LC3合成后, 最初以pro-LC3形式存在, 然后立刻被Atg4B切割暴露C端120位的甘氨酸残基形成LC3-I<sup>[53]</sup>。自噬发生时, 均匀分布于细胞质中的LC3-I被Atg7活化并与其形成硫酯键, 然后被传递给Atg3<sup>[54]</sup>, 并最终在Atg5-Atg12-Atg16复合物的帮助下连接上一个PE分子, 形成具有膜结合能力的LC3-II<sup>[55]</sup>。Atg5-Atg12-Atg16复合物可能作为E3连接酶促进LC3类泛素化连接PE, Atg16L的细胞定位决定了LC3成熟的位置, 并促进LC3-II结合到自噬泡上<sup>[55]</sup>。自噬发生晚期, 自噬泡外膜的LC3-II能被Atg4B识别, 并同样被Atg4B切下C端的PE, 形成非膜结合形式的LC3-I以供重新

利用<sup>[53]</sup>。有报道<sup>[13,56]</sup>表明, LC3也参与选择性自噬降解,成熟的LC3通过和衔接蛋白p62或NBR1结合,识别待降解的泛素化蛋白。线虫中,EPG-2能特异性识别并携带PGL颗粒(germline P granule)到含LGG-1(线虫中Atg8的同源物)的点状结构中,表明衔接蛋白具有特异性识别降解自噬底物的功能<sup>[39]</sup>。

## 6 自噬与疾病发生

### 6.1 神经系统疾病

临床研究发现,在许多神经退行性疾病中,病变区域常有大量的泛素化蛋白质聚合物,这些多因错误折叠而被泛素化的蛋白质聚合物正是引起神经退行性疾病的重要原因之一。自噬的正常发生对清除这些蛋白质聚合物起着关键性的作用。小鼠中特异性敲除神经元中的自噬基因*Atg5*或*Atg7*,会抑制自噬发生的水平,同时伴随着大量泛素化蛋白质聚合物的积累,并最终引发神经退行性疾病<sup>[57-58]</sup>。在神经细胞中,诱导自噬发生能促进蛋白质聚合物的清除,能缓解神经退行性疾病的症状。在小鼠和果蝇模型中,用Rapamycin或其类似物抑制mTOR的活性促进自噬发生,可以缓解神经退行性疾病的症状。在细胞模型中诱导自噬,能促进细胞清除引起亨廷顿病的一些毒性蛋白<sup>[59-60]</sup>,提示诱导自噬可能成为一种治疗神经退行性疾病的的治疗方法。

### 6.2 免疫

自噬是至今已发现的唯一可以降解细胞器和较大蛋白质聚集物的细胞降解过程,因此自噬能够用来降解外来微生物也被自噬研究者所预测<sup>[61]</sup>。事实上,一些参与免疫的细胞因子可以诱导自噬。巨噬细胞中,干扰素IFN- $\gamma$ 可以诱导自噬来抵御分枝杆菌等病原菌。而且在已感染的巨噬细胞中,用IFN- $\gamma$ 预处理可以引起自噬泡吞噬含有病原菌的膜泡并与溶酶体融合<sup>[62]</sup>,增强其对胞内细菌的杀伤力。血管平滑肌细胞中,肿瘤坏死因子TNF- $\alpha$ 通过激活JNK通路和抑制Akt,上调LC3和Beclin1的表达促进自噬<sup>[63]</sup>。

最近有研究发现,一些自噬蛋白甚至整个自噬过程都直接参与免疫和炎症反应<sup>[64]</sup>。巨噬细胞中,含有TLR配体包裹颗粒的吞噬体和溶酶体的融合需要Beclin1和LC3的协助。树突细胞中,自噬蛋白也参与溶酶体和含有凋亡细胞抗原TLR(Toll like receptor)吞噬体的融合<sup>[65]</sup>。Beclin1-PI3K复合物、LC3、Atg12可以被募集到含有革兰氏阴性菌的小泡中<sup>[66]</sup>。巨噬

细胞还能以依赖Atg5的方式清除含寄生虫的小泡<sup>[67]</sup>。而在非吞噬细胞中,一种类似自噬泡的膜泡能包裹一些外源微生物(如甲类链球菌, group A *Streptococcus*),这种膜泡与溶酶体融合导致微生物最终被杀死<sup>[68]</sup>。除了参与细胞固有免疫,自噬也在适应性免疫中发挥重要作用,如维持免疫系统的稳定和抗原呈递。一些自噬蛋白(如: Atg5)对维持外周血中B细胞和T细胞数量以及促进这些淋巴细胞的成熟非常重要<sup>[69-70]</sup>。在抗原呈递中,自噬可以传递内源合成的抗原以便主要组织相容性复合物II处理,使CD4+T细胞能够识别抗原<sup>[71]</sup>。总的来说,尽管自噬参与免疫功能发挥的具体机制还不是很清楚,但是,自噬蛋白参与宿主细胞清除侵入病原体的过程已在很多研究中被发现,自噬与细胞免疫的发生必然存在密切的联系。

### 6.3 肿瘤

自噬与肿瘤发生的联系是当今自噬研究的一个重要热点问题。众多的研究发现,肿瘤的发生可能与细胞自噬障碍存在密切的联系。自噬功能正常,对肿瘤起抑制作用,而敲除自噬基因将引发肿瘤的形成。许多自噬分子在自噬研究的开始就已经被人们以肿瘤抑制蛋白所认知,如*Beclin1*其实就是一个肿瘤抑制基因,干扰*Beclin1*的表达使自噬受到抑制,会增加肿瘤发生的可能<sup>[72]</sup>。在胸腺癌细胞系中过表达*Beclin1*,可以减缓癌细胞的生长速度并减少其致癌性<sup>[73]</sup>。UVRAG能够结合Beclin1/Vps34复合物促进自噬,而UVRAG同时有抑制肿瘤的功能<sup>[74]</sup>。Bif-1可以通过UVRAG结合Beclin1增强自噬,敲除*Bif-1*,显著加快了肿瘤的生长<sup>[37]</sup>。*Bcl-2*和*Bcl-XL*可以通过抑制*Beclin1*而抑制自噬,而两者都是人们所熟知的致癌基因<sup>[75-76]</sup>。此外,PTEN可以通过抑制I型PI3K的功能增强自噬,而*PTEN*也是一个抑癌基因<sup>[77]</sup>。从根本上说,自噬受阻可能导致细胞失去生长调节及启动程序性死亡的能力,同时还可能阻碍细胞分解代谢,使p62、受损的线粒体、蛋白质聚合物、ROS等有害物质积累,并进一步损伤基因组DNA的稳定性,致使原癌基因激活,而以上这些最终都将导致肿瘤的发生<sup>[78]</sup>。肿瘤形成以后,肿瘤细胞能利用自噬提高其生存能力,而这又使得癌细胞在不利的环境中利用自噬提供其生存所需的营养物质<sup>[79]</sup>。如在*p53*敲除的癌细胞中,自噬可以帮助癌细胞在饥饿环境中更好地生存<sup>[80]</sup>。另外,自噬还可以减少细胞由于脱离细胞外基质而凋亡(失巢凋亡)的发生,可以

提高肿瘤细胞的转移能力<sup>[81]</sup>。总的来说, 自噬对肿瘤细胞的作用可以是正面的, 也可以是反面的, 自噬能使细胞避免癌化, 但当肿瘤形成后, 自噬却可以使肿瘤细胞的自我保护能力和转移能力大大提升<sup>[82]</sup>。

## 7 展望

作为真核细胞中重要的物质降解过程, 自噬的分子细胞机理和生理病理意义正在被逐渐认识和解析。然而, 有关自噬相关基因的功能和自噬的发生机制等还有待进一步研究, 如自噬泡膜的来源、自噬前体的生长和闭合以及自噬泡与溶酶体的融合机制等。相对于低等真核生物, 哺乳动物的自噬涉及更多的自噬基因, 其调控过程更为复杂。为应对不同的外界环境刺激, 细胞中的信号通路如何精密调节自噬的发生还不是很清楚。自噬在细胞生与死的决定中扮演的角色还存在争议, 在肿瘤发生、免疫性疾病、神经退行性疾病和代谢性疾病中的作用和意义也有待明确。通过调节自噬过程来治疗这些疾病在临床上还需要更多的尝试和验证。关于自噬的更加深入的认识, 必将为人类对抗和最终解决这些疾病产生深刻影响。

### 参考文献 (References)

- Yorimitsu T, Daniel J, Klionsky. Autophagy: Molecular machinery for self-eating. *Cell Death Differ* 2005; 12(Suppl 2): 1542-52.
- Avram H, Aaron C. The ubiquitin system for protein degradation. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 761-807.
- Mizushima N, Levine B. Autophagy in mammalian development and differentiation. *Nat Cell Biol* 2010; 12(9): 823-30.
- Clark SL Jr. Cellular differentiation in the kidneys of newborn mice studied with the electron microscope. *J Biophys Biochem Cytol* 1957; 3(3): 349-62.
- Yang ZF, Klionsky DJ. Eaten alive: A history of macroautophagy. *Nat Cell Biol* 2010; 12 (9): 814-22.
- Marzella L, Ahlberg J, Glaumann H. Autophagy, heterophagy, microautophagy and crinophagy as the means for intracellular degradation. *Virchows Arch (Cell Pathol)* 1981; 36(2/3): 219-34.
- Kaushik S, Bandyopadhyay U, Sridhar S, Kiffin R, Martinez-Vicente M, Kon M, *et al.* Chaperone-mediated autophagy at a glance. *J Cell Sci* 2011; 124(4): 495-9.
- Mizushima N. The pleiotropic role of autophagy: From protein metabolism to bactericide. *Cell Death Differ* 2005; 12: 1535-41.
- Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, *et al.* Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature* 2006; 441(7095): 885-9.
- Inami Y, Waguri S, Sakamoto A, Kouno T, Nakada K, Hino O, *et al.* Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells. *J Cell Biol* 2011; 193(2): 275-84.
- Mizushima N, Yamamoto A, Hatano M, Kobayashi Y, Kabeya Y, Suzuki K, *et al.* Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells. *J Cell Biol* 2001; 152(4): 657-68.
- Weidberg H, Shpilka T, Shvets E, Abada A, Shimron F, Elazar Z. LC3 and GATE-16 N termini mediate membrane fusion processes required for autophagosome biogenesis. *Dev Cell* 2011; 20(4): 444-54.
- Pankiv S, Clausen TH, Lamark T, Brech A, Bruun JA, Outzen H, *et al.* P62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy. *J Biol Chem* 2007; 282(33): 24131-45.
- Fader CM, Sánchez D, Furlán M, Colombo MI. Induction of autophagy promotes fusion of multivesicular bodies with autophagic vacuoles in K562 cells. *Traffic* 2008; 9: 230-50.
- Yu L, McPhee CK, Zheng L, Mardones GA, Rong Y. Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. *Nature* 2010; 465(7300): 942-6.
- Axe EL, Walker SA, Manifava M, Chandra P, Roderick HL, Habermann A, *et al.* Autophagosome formation from membrane compartments enriched in phosphatidylinositol 3-phosphate and dynamically connected to the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol* 2008; 182(4): 685-701.
- Geng J, Klionsky DJ. The Golgi as a potential membrane source for autophagy. *Autophagy* 2010; 6(7): 950-1.
- Hailey DW, Rambold AS, Satpute-Krishnan P, Mitra K, Sougrat R, Kim PK, *et al.* Mitochondria supply membranes for autophagosome biogenesis during starvation. *Cell* 2010; 141(4): 656-67.
- Ravikumar B, Moreau K, Jahreiss L, Puri C, Rubinsztein DC. Plasma membrane contributes to the formation of pre-autophagosomal structures. *Nat Cell Biol* 2010; 12(8): 747-57.
- Jung CH, Ro SH, Cao J, Otto NM, Kim DH. mTOR regulation of autophagy. *FEBS Lett* 2010; 584(7): 1287-95.
- Guertin DA, Sabatini DM. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell* 2007; 12(1): 9-22.
- Jacinto E, Loewith R, Schmidt A, Lin S, Rueegg MA, Hall A, *et al.* Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nat Cell Biol* 2004; 6(11): 1122-8.
- Corradetti MN, Inoki K, Bardeesy N, DePinho RA, Guan KL. Regulation of the TSC pathway by LKB1: Evidence of a molecular link between tuberous sclerosis complex and Peutz-Jeghers syndrome. *Genes Dev* 2004; 18(13): 1533-8.
- Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, Mihaylova MM, Mery A, Vasquez DS, *et al.* AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell* 2008; 30(2): 214-26.
- Inoki K, Li Y, Zhu T, Wu J, Guan KL. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signaling. *Nat Cell Biol* 2002; 4(9): 648-57.
- Tsukada M, Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* 1993; 333(1/2): 169-74.
- Matsuura A, Tsukada M, Wada Y, Ohsumi Y. Apg1p, a novel protein kinase required for the autophagic process in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 1997; 192(2): 245-50.
- Jung CH, Jun CB, Ro SH, Kim YM, Otto NM, Cao J, *et al.* ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the



- autophagy machinery. *Mol Biol Cell* 2009; 20(7): 1992-2003.
- 29 Hosokawa N, Hara T, Kaizuka T, Kishi C, Takamura A, Miura Y, *et al.* Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol Biol Cell* 2009; 20(7): 1981-91.
- 30 Itakura E, Mizushima N. Characterization of autophagosome formation site by a hierarchical analysis of mammalian Atg proteins. *Autophagy* 2010; 6(6): 764-76.
- 31 Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol* 2011; 13(2): 132-41.
- 32 Yan Y, Flinn RJ, Wu H, Schnur RS, Backer JM. hVps15, but not Ca<sup>2+</sup>/CaM, is required for the activity and regulation of hVps34 in mammalian cells. *Biochem J* 2009; 417(3): 747-55.
- 33 Itakura E, Kishi C, Inoue K, Mizushima N. Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol Biol Cell* 2008; 19(12): 5360-72.
- 34 Fimia GM, Stoykova A, Romagnoli A, Giunta L, di Bartolomeo S, Nardacci R, *et al.* Ambra1 regulates autophagy and development of the nervous system. *Nature* 2007; 447(7148): 1121-5.
- 35 Liang C, Lee JS, Inn KS, Gack MU, Li Q, Roberts EA, *et al.* Beclin1-binding UVRAG targets the class C Vps complex to coordinate autophagosome maturation and endocytic trafficking. *Nat Cell Biol* 2008; 10(7): 776-87.
- 36 Matsunaga K, Saitoh T, Tabata K, Omori H, Satoh T, Kurotori N, *et al.* Two Beclin 1-binding proteins, Atg14L and Rubicon, reciprocally regulate autophagy at different stages. *Nat Cell Biol* 2009; 11(4): 385-96.
- 37 Takahashi Y, Coppola D, Matsushita N, Cualing HD, Sun M, Sato Y, *et al.* Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy and tumorigenesis. *Nat Cell Biol* 2007; 9(10): 1142-51.
- 38 Simonsen A, Tooze SA. Coordination of membrane events during autophagy by multiple class III PI3-kinase complexes. *J Cell Biol* 2009; 186(6): 773-82.
- 39 Tian Y, Li Z, Hu W, Ren H, Tian E, Zhao Y, *et al.* *C. elegans* screen identifies autophagy genes specific to multicellular organisms. *Cell* 2010; 141(6): 1042-55.
- 40 Byfield MP, Murray JT, Backer JM. hVps34 is a nutrient-regulated lipid kinase required for activation of p70 S6 kinase. *J Biol Chem* 2005; 280(38): 33076-82.
- 41 Juhász G, Hill JH, Yan Y, Sass M, Baehrecke EH, Backer JM, *et al.* The class III PI(3)K Vps34 promotes autophagy and endocytosis but not TOR signaling in *Drosophila*. *J Cell Biol* 2008; 181(4): 655-66.
- 42 Ravikumar B, Imarisio S, Sarkar S, O’Kane CJ, Rubinsztein DC. Rab5 modulates aggregation and toxicity of mutant huntingtin through macroautophagy in cell and fly models of Huntington disease. *J Cell Sci* 2008; 121(10): 1649-60.
- 43 Murray JT, Panaretou C, Stenmark H, Miaczynska M, Backer JM. Role of Rab5 in the recruitment of hVps34/p150 to the early endosome. *Traffic* 2002; 3(6): 416-27.
- 44 Suzuki K, Kirisako T, Kamada Y, Mizushima N, Noda T, Ohsumi Y. The pre-autophagosomal structure organized by concerted functions of APG genes is essential for autophagosome formation. *EMBO J* 2001; 20(21): 5971-81.
- 45 Reggiori F, Shintani T, Nair U, Klionsky DJ. Atg9 cycles between mitochondria and the pre-autophagosomal structure in yeasts. *Autophagy* 2005; 1(2): 101-9.
- 46 Webber JL, Tooze SA. New insights into the function of Atg9. *FEBS Lett* 2010; 584(7): 1319-26.
- 47 Young AR, Chan EY, Hu XW, Köchl R, Crawshaw SG, High S, *et al.* Starvation and ULK1-dependent cycling of mammalian Atg9 between the TGN and endosomes. *J Cell Sci* 2006; 119(18): 3888-900.
- 48 Tanida I, Mizushima N, Kiyooka M, Ohsumi M, Ueno T, Ohsumi Y, *et al.* Apg7p/Cvt2p: A novel protein-activating enzyme essential for autophagy. *Mol Biol Cell* 1999; 10(5): 1367-79.
- 49 Shintani T, Mizushima N, Ogawa Y, Matsuura A, Noda T, Ohsumi Y. Apg10p, a novel protein—conjugating enzyme essential for autophagy in yeast. *EMBO J* 1999; 18(19): 5234-41.
- 50 Mizushima N, Noda T, Yoshimori T, Tanaka Y, Ishii T, George MD, *et al.* A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature* 1998; 395(6700): 395-8.
- 51 Mizushima N, Kuma A, Kobayashi Y, Yamamoto A, Matsubae M, Takao T, *et al.* Mouse Apg16L, a novel WD-repeat protein, targets to the autophagic isolation membrane with the Apg12-Apg5 conjugate. *J Cell Sci* 2003; 116(9): 1679-88.
- 52 Weidberg H, Shpilka T, Shvets E, Abada A, Shimron F, Elazar Z. LC3 and GATE-16 N termini mediate membrane fusion processes required for autophagosome biogenesis. *Dev Cell* 2011; 20(4): 444-54.
- 53 Tanida I, Sou YS, Ezaki J, Minematsu-Ikeguchi N, Ueno T, Kominami E. HsAtg4B/HsApg4B/autophagin-1 cleaves the carboxyl termini of three human Atg8 homologues and delipidates microtubule-associated protein light chain 3- and GABAA receptor-associated protein-phospholipid conjugates. *J Biol Chem* 2004; 279(35): 36268-76.
- 54 Tanida I, Tanida-Miyake E, Komatsu M, Ueno T, Kominami E. Human Apg3p/Aut1p homologue is an authentic E2 enzyme for multiple substrates, GATE-16, GABARAP, and MAP-LC3, and facilitates the conjugation of hApg12p to hApg5p. *J Biol Chem* 2002; 277(16): 13739-44.
- 55 Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, Yamamoto A, Kirisako T, Noda T, *et al.* LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. *EMBO J* 2000; 19(21): 5720-8.
- 56 Kirkin V, Lamark T, Sou YS, Bjørkøy G, Nunn JL, Bruun JA, *et al.* A role for NBR1 in autophagosomal degradation of ubiquitinated substrates. *Mol Cell* 2009; 33(4): 505-16.
- 57 Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, *et al.* Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature* 2006; 441(7095): 885-9.
- 58 Komatsu M, Waguri S, Chiba T, Murata S, Iwata J, Tanida I, *et al.* Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature* 2006; 441(7095): 880-4.
- 59 Sarkar S, Perlstein EO, Imarisio S, Pineau S, Cordenier A, Maglathlin RL, *et al.* Small molecules enhance autophagy and reduce toxicity in Huntington’s disease models. *Nat Chem Biol* 2007; 3(6): 331-8.
- 60 Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, Davies JE, Luo S, Oroz LG, *et al.* Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of

- Huntington disease. *Nat Genet* 2004; 36(6): 585-95.
- 61 Kraft C, Peter M, Hofmann K. Selective autophagy: Ubiquitin-mediated recognition and beyond. *Nat Cell Biol* 2010; 12(9): 836-41.
- 62 Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, Taylor GA, Colombo MI, Deretic V. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages. *Cell* 2004; 119(6): 753-66.
- 63 Jia G, Cheng G, Gangahar DM, Agrawal DK. Insulin-like growth factor-1 and TNF-alpha regulate autophagy through c-jun N-terminal kinase and Akt pathways in human atherosclerotic vascular smooth cells. *Immunol Cell Biol* 2006; 84(5): 448-54.
- 64 Sanjuan MA, Dillon CP, Tait SW, Moshiah S, Dorsey F, Connell S, *et al.* Toll-like receptor signaling in macrophages links the autophagy pathway to phagocytosis. *Nature* 2007; 450(7173): 1253-7.
- 65 Lee HK, Mattei LM, Steinberg BE, Alberts P, Lee YH, Chervonsky A, *et al.* *In vivo* requirement for Atg5 in antigen presentation by dendritic cells. *Immunity* 2010; 32(2): 227-39.
- 66 Berger SB, Romero X, Ma C, Wang G, Faubion WA, Liao G, *et al.* SLAM is a microbial sensor that regulates bacterial phagosome functions in macrophages. *Nat Immunol* 2010; 11(10): 920-7.
- 67 Zhao Z, Fux B, Goodwin M, Dunay IR, Strong D, Miller BC, *et al.* Autophagosome-independent essential function for the autophagy protein Atg5 in cellular immunity to intracellular pathogens. *Cell Host Microbe* 2008; 4(5): 458-69.
- 68 Nakagawa I, Amano A, Mizushima N, Yamamoto A, Yamaguchi H, Kamimoto T, *et al.* Autophagy defends cells against invading group A *Streptococcus*. *Science* 2004; 306(5698): 1037-40.
- 69 Pua HH, Dzhagalov I, Chuck M, Mizushima N, He YW. A critical role for the autophagy gene Atg5 in T cell survival and proliferation. *J Exp Med* 2007; 204(1): 25-31.
- 70 Mortensen M, Ferguson DJ, Edelman M, Kessler B, Morten KJ, Komatsu M. Loss of autophagy in erythroid cells leads to defective removal of mitochondria and severe anemia *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(2): 832-7.
- 71 Paludan C, Schmid D, Landthaler M, Vockerodt M, Kube D, Tuschl T. Endogenous MHC class II processing of a viral nuclear antigen after autophagy. *Science* 2005; 307(5709): 593-6.
- 72 Yue Z, Jin S, Yang C, Levine AJ, Heintz N. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(25): 15077-82.
- 73 Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, *et al.* Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999; 402(6762): 672-6.
- 74 Liang C, Feng P, Ku B, Dotan I, Canaani D, Oh BH, *et al.* Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat Cell Biol* 2006; 8(7): 688-99.
- 75 Pattingre S, Tassa A, Qu X, Garuti R, Liang XH, Mizushima N, *et al.* Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell* 2005; 122(6): 927-39.
- 76 Maiuri MC, Le Toumelin G, Criollo A, Rain JC, Gautier F, Juin P, *et al.* Functional and physical interaction between Bcl-X(L) and a BH3-like domain in Beclin-1. *EMBO J* 2007; 26(10): 2527-39.
- 77 Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, *et al.* PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997; 275(5308): 1943-47.
- 78 Mathew R, Karp CM, Beaudoin B, Vuong N, Chen G, Chen HY, *et al.* Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell* 2009; 137(6): 1062-75.
- 79 Bialik S, Kimchi A. Autophagy and tumor suppression: Recent advances in understanding the link between autophagic cell death pathways and tumor development. *Adv Exp Med Biol* 2008; 615: 177-200.
- 80 Tasdemir E, Maiuri MC, Galluzzi L, Vitale I, Djavaheri-Mergny M, D'Amelio M, *et al.* Regulation of autophagy by cytoplasmic p53. *Nat Cell Biol* 2008; 10(6): 676-87.
- 81 Fung C, Lock R, Gao S, Salas E, Debnath J. Induction of autophagy during extracellular matrix detachment promotes cell survival. *Mol Biol Cell* 2008; 19(3): 797-806.
- 82 石峰, 王明荣. 细胞自噬及其与肿瘤关系的研究进展. *中国细胞生物学学报* 2011; 33(12): 1366-73.



## Molecular Cell Mechanism of Autophagy

Fang Mengdie, Liu Bo, Liu Wei\*

*(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)*

**Abstract** Autophagy, a highly conserved mechanism in eukaryotes, is a lysosome-dependent pathway for the turnover and recycling of intracellular macromolecules and damaged organelles. Autophagy is involved in multiple physiological and pathological processes. Autophagy-related study is becoming a worldwide hot-spot of life science. Clarification of the molecular and cellular mechanism of autophagy, and the significance of autophagy in the physiological/pathological processes, will contribute in a great degree to the prevention and therapy of the diseases. This review aims to summarize the recent achievements in autophagy field by focusing on the induction of autophagy and its role in related diseases.

**Key words** autophagy; autophagosome; lysosome; cancer

---

Received: December 5, 2011 Accepted: February 3, 2012

This work was supported by Ministry of Science and Technology of Zhejiang Province (No.2010R10059) and the State Key Development Program for Basic Research of China (No.2011CB910101)

\*Corresponding author. Tel/Fax: 86-571-88208357, E-mail: liuwei666@zju.edu.cn