

# 细胞自噬调控的分子机制研究进展

李乐兴 戴汉川\*

(华中农业大学动物医学院, 基础兽医学系动物生物化学教研室, 武汉 430070)

**摘要** 细胞自噬是一种进化上保守的分解代谢过程, 涉及细胞内长寿命蛋白和受损伤细胞器的降解, 其在细胞内稳态、肿瘤、心力衰竭、衰老相关性疾病、神经退行性疾病以及传染病等多种生命进程中发挥着重要作用。泛素样蛋白系统、mTOR信号通路、microRNA、caspase等均参与了细胞自噬调控过程。该文综述了细胞自噬过程、功能和分子调控机制的研究进展, 以期有助于研究细胞自噬机理, 为治疗心脏疾病(如动脉粥样硬化)、癌症(如乳腺癌)等提供理论基础。

**关键词** 细胞自噬; 泛素化; mTOR; microRNA; caspase; 分子调控

## Research Progress of the Molecular Mechanism of Autophagy Regulation

Li Lexing, Dai Hanchuan\*

(Animal Biochemistry Teaching and Research Office of Basic Veterinary Department, College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract** Autophagy, as an evolutionarily conserved catabolic process, involves in intracellular long-lived protein and damaged organelles catabolism. Autophagy plays an important role in a variety of life processes, such as the cell homeostasis, tumor, heart failure, aging-related diseases, neurodegenerative disease and infectious diseases. Ubiquitin protein system, mTOR signaling pathway, microRNA and caspase mediate autophagy regulation. Therefore, we summarized the research progress of the autophagy process, function and molecular mechanism in the article to help research autophagy mechanism and provide theoretical basis for treating certain diseases.

**Keywords** autophagy; ubiquitylation; mTOR; microRNA; caspase; molecular regulation

细胞自噬是广泛存在于真核细胞内的一种溶酶体依赖性的降解途径。细胞自噬导致细胞内长寿命蛋白和受损伤细胞器的降解, 使细胞在应激条件下循环利用营养物质和三羧酸循环产生的ATP继续生存<sup>[1-5]</sup>。根据细胞内底物运送到溶酶体腔方式的不同, 哺乳动物细胞自噬可分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)三种主要方式, 但目前研究最为广泛的是巨自噬。研究表明, 细胞自噬在细胞内稳态、癌症、心力衰竭、神

经退行性疾病、传染病、衰老相关性疾病<sup>[1-4]</sup>等生命过程中发挥着重要作用。近年来, 随着自噬基因和及其功能被相继发现, 自噬成为继凋亡(apoptosis)之后生命科学最热的研究领域之一。本文综述了近年来细胞自噬的研究进展, 以期有助于细胞自噬调控的深入研究, 并为治疗心脏疾病(如动脉粥样硬化)、癌症(如乳腺癌)等提供理论基础。

### 1 细胞自噬的过程

自噬包括生理条件的基础型自噬和应激条件下

收稿日期: 2014-08-23 接受日期: 2014-10-09

中央高校基本科研业务费专项(批准号: 2011QC004)和湖北省自然科学基金(批准号: 2013CFB190)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 027-87280408, E-mail: daihch@126.com

Received: August 23, 2014 Accepted: October 9, 2014

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.2011QC004) and the Natural Science Foundation of Hubei Province (Grant No.2013CFB190)

\*Corresponding author. Tel: +86-27-87280408, E-mail: daihch@126.com

网络出版时间: 2015-01-19 15:40 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150119.1540.005.html>

的诱导型自噬<sup>[6-7]</sup>。细胞自噬主要包括以下过程: (1) 自噬诱导, 诸如辐射、饥饿、缺氧、细菌入侵、生长因子匮乏等多种因素均可诱导自噬发生<sup>[6,8]</sup>; (2) 囊泡(吞噬泡)成核, 细胞内质网膜、线粒体外膜、高尔基复合体膜或质膜等构成囊泡的双层或多层膜结构, 30多种 Atg(autophagy-related)蛋白在囊泡膜上顺序耦联组装成 PAS(pre-autophagosomal structures)<sup>[1,3,9-10]</sup>。其中, Beclin1/BECN1(Atg6)作为构成 III类 PI3K(phosphoinositide 3-kinase)复合体的支架蛋白<sup>[11-12]</sup>, 通过 Vps34-p150 复合体与 Atg9、Atg14L 和 UVRAG(ultraviolet radiation resistance-associated gene protein)等蛋白结合, 形成 PI3K 核心复合体启动自噬<sup>[13]</sup>; (3) 自噬体的成熟, PI3K 核心复合体转变成 PtdIns(3)P(phosphatidylinositol 3-phosphate)<sup>[13]</sup>, PtdIns(3)P 作为“着陆台”<sup>[3]</sup>, 募集自噬蛋白进入到吞噬泡(phagophore)成核中心<sup>[10]</sup>, 在泛素化耦联系统的辅助下, Atg10、Atg7、Atg3、Atg8/LC3、Atg4 和 Atg12-Atg5-Atg16L1 等最终被募集到 PAS, 参与囊泡膜延伸和自噬体(autophagosome)的成熟; (4) 自噬溶酶体的融合, 自噬体通过酸化与溶酶体融合形成自噬溶酶体(autophagolysosome)。自噬体膜的受体蛋白 SQSTM1/p62 接受酶作用的底物(错误折叠蛋白或蛋白聚合物), 降解 p62 及其靶蛋白, 清除线粒体、内质网等受损细胞器, 释放出营养物质和 ATP 供细胞再利用<sup>[3]</sup>。此外, p62 还与自噬活性呈负相关性, 反映自噬溶酶体溶解酶活性和自噬潮(autophagic flux)的强弱, 因此可作为自噬的分子标记<sup>[14-15]</sup>(图1)。

## 2 细胞自噬的功能

生理性自噬是细胞的自我保护机制, 有益于细胞的生长发育, 保护细胞防止代谢应激和氧化损伤, 对维持细胞内稳态以及细胞产物的合成、降解和循

环再利用具有重要作用<sup>[16-17]</sup>; 但自噬过度可能导致代谢应激、降解细胞成分、细胞死亡等, 打破细胞生长和死亡(细胞死亡至少分为三种形态学上不同的进程, 即细胞凋亡、自噬性细胞死亡和坏死, 此处所指的死亡可能伴随着细胞自噬, 过度自噬以一种不同于凋亡和坏死的方式使细胞死亡, 但自噬与二者还有一定的关联性, 比如 Bcl-2 和 Beclin1 之间的互作)间的平衡<sup>[11-12]</sup>。

自噬在多种生理病理过程中发挥重要作用。缺血再灌注显著上调 Beclin1, 激发心肌细胞自噬; Beclin1 表达下调抑制自噬, 减弱心肌损伤。研究认为, 自噬是动脉粥样硬化发展过程中的一种保护机制, 因为自噬通过加工氧化修饰蛋白使斑块固化, 而自噬缺陷加剧动脉粥样硬化<sup>[4]</sup>。在肿瘤细胞生物学上, 根据细胞基因组成和细胞所处环境的变化, 自噬既能抑制肿瘤抑制因素发挥作用, 自噬基因的缺失又可促进肿瘤的生成<sup>[5,18]</sup>。研究发现, 一方面, 自噬可使乳腺癌细胞继续生存; 而另一方面, 自噬又可导致结肠癌细胞 HCT116 的死亡<sup>[14]</sup>。目前普遍认为, 在乏氧、营养缺乏、代谢应激等条件以及抗癌治疗(如化学疗法、放射疗法)等环境下, 癌细胞通过自噬可以继续生存<sup>[5,19]</sup>。此外, 自噬还可能在衰老、炎症、细胞凋亡、胞内病原体入侵、神经退行性疾病等方面发挥着重要作用<sup>[10,20-21]</sup>。

## 3 细胞自噬调控的分子机制

### 3.1 泛素样蛋白系统对细胞自噬的调控

泛素化是在翻译后水平上进行蛋白修饰的一种方式, 参与蛋白酶体依赖性蛋白水解、蛋白功能调控、亚细胞分布和/或蛋白质互作。在泛素激活酶(ubiquitin-activating enzyme, E1)、泛素接合酶(ubiquitin-conjugating enzyme, E2)以及泛素蛋白连

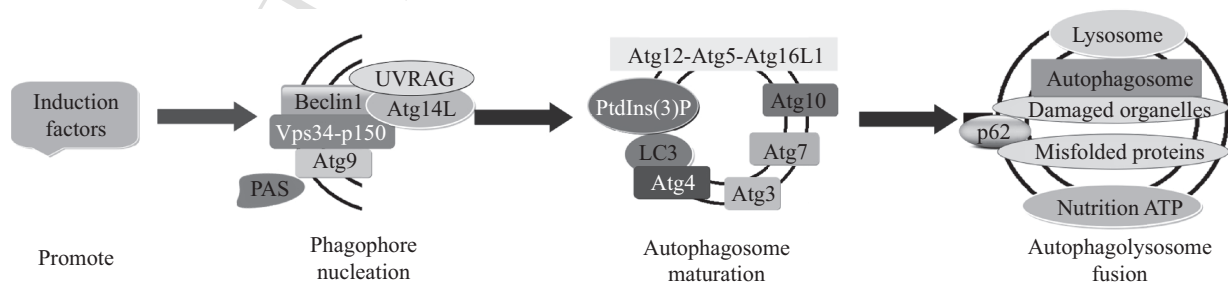


图1 细胞自噬过程模拟图

Fig.1 The simulated image of autophagy process

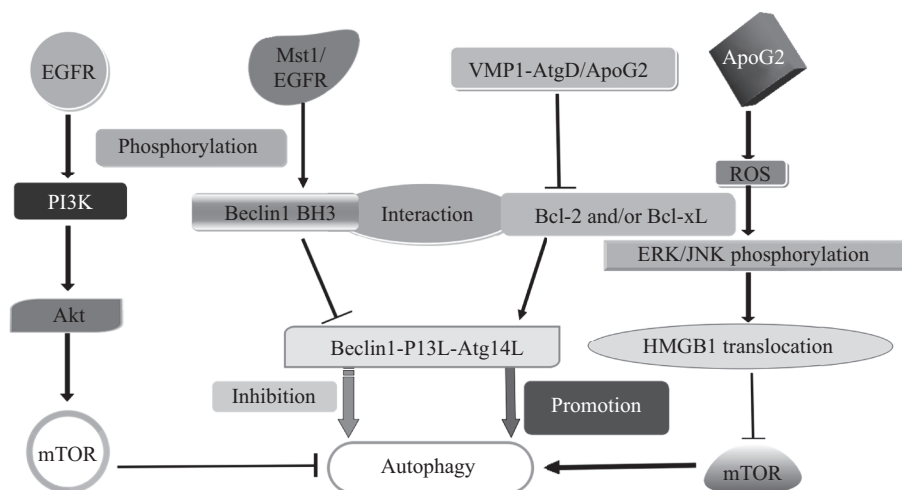


图2 mTOR信号通路介导细胞自噬调控模式图

Fig.2 The simulated image of mTOR signaling pathway mediating autophagy regulation

接酶(ubiquitin-protein ligase, E3)的连续作用下, 泛素与底物蛋白特定的Lys残基共价结合完成泛素化<sup>[22]</sup>。同时, 泛素化也是一种可逆性的过程, 可由去泛素化酶将泛素从蛋白质上除去。泛素化主要包括以下3步酶促反应过程: (1)在ATP作用下, E1可在其Cys和泛素的C-端的Gly之间形成硫酯键, 即E1-SH~Ub, 从而激活泛素; (2)在ATP和E2酶作用下, 泛素从E1转移到E2上, 同样以硫酯键的方式结合(E2-SH~Ub); (3) E3酶可以特异性识别底物蛋白并与之结合, 与此同时E2将激活的泛素直接转移到某些E3结合的底物上, 经过多个重复, 多个泛素之间通过Lys相互连接, 在底物上形成多泛素链。

E1-样酶Atg7和E2-样酶Atg10泛素样反应后, 泛素样蛋白Atg12与Atg5 Lys<sup>130</sup>共价耦联, Atg16L1作为连接蛋白, 增强Atg12和E3泛素连接酶样蛋白Atg5间的互动, 而后Atg12-Atg5与Atg16L1形成E3连接酶样复合物并定位于PAS<sup>[1]</sup>。半胱氨酸酶Atg4酶切LC3并暴露C-端最后5个Gly残基<sup>[3]</sup>, 在E2-样酶Atg3辅助下, 与磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)发生E3-样共轭形成脂化的LC3(LC3-II)并定位于PAS, 吞噬泡加工成为成熟自噬体<sup>[16,23-25]</sup>。

### 3.2 mTOR信号通路对细胞自噬的调控

mTOR(mammalian target of rapamycin)属于Ser/Thr激酶, 参与细胞发育、核糖体生成和代谢调控等生物学过程。mTOR包括雷帕霉素敏感型mTORC1和雷帕霉素非敏感型mTORC2。mTORC1通过磷酸化ULK1-Atg13-RB1CC1-C12orf44/Atg101复合物使

其失活<sup>[26]</sup>, 从而负调控细胞自噬体的形成, 其活化程度可反映自噬水平, 如果阻断mTORC1的功能, Ser/Thr激酶可磷酸化Atg1复合物并激活自噬。mTORC2的磷酸化能激活Akt(PKB)和Atg1抑制自噬, 也可上调HIF1A(hypoxia-inducible factor 1A)的表达<sup>[14,27-28]</sup>。mTOR调控细胞自噬主要包括mTOR非依赖性和mTOR依赖性两条信号通路(图2)。

**3.2.1 mTOR非依赖性信号通路** 有实验发现, Mst1(mammalian Ste20-like kinase 1)可使Beclin1 BH3结构域N-端的Thr<sup>108</sup>磷酸化, 增强Beclin1与Bcl-2和/或Bcl-xL疏水沟 $\alpha$ 3螺旋间的互动, 使Beclin1同源二聚体稳定, 减弱Atg14L与Beclin1的结合, 降低Beclin1-PI3K-Atg14L复合物脂激酶Vps34的活性以抑制自噬<sup>[11]</sup>。Molejon等<sup>[10]</sup>认为, VMP1(vacuole membrane protein 1) 20位氨基酸残基C-端亲水性结构域(VMP1-AtgD)与Beclin1 BH3结构域结合致使Bcl-2与Beclin1解离, 最终形成VMP1-Beclin1-hVps34-Atg14L复合物共同定位于PAS, 启动PI3P生成、泛素样级联反应和囊泡的形成。有趣的是, 棉酚衍生物ApoG2与Mst1作用相反, ApoG2破坏Beclin1和Bcl-2/xL的互动, 释放出Beclin1 BH3结构域, 从而诱导自噬, 但氯喹(chloroquine, CQ)与ApoG2结合可阻断自噬体与溶酶体的融合<sup>[27]</sup>。而EGFR(epidermal growth factor receptor)通过磷酸化Beclin1多个位点的酪氨酸, 增强Beclin1与抑制剂的结合能力, 降低Vps34脂激酶活性以抑制自噬<sup>[29]</sup>。

**3.2.2 mTOR依赖性信号通路** Qased等<sup>[19]</sup>发现,

Ser/Thr蛋白激酶 ATM(ataxia telangiectasia mutated) 属 PIKK(PI3K-related protein kinase) 家族, ATM C-端序列与 PI3K 催化区同源, 其能够刺激 LBK/AMPK/TSC2 通路的下游信号, 抑制 mTORC1。mTORC1 被抑制后可激活 ULK1(unc-51 like autophagy activating kinase 1), ULK1 通过与 UVRAG 结合再使 Beclin1 Ser<sup>14</sup> 磷酸化, 从而增强 Beclin1-Vps34-Atg14L 复合体的活性, 启动自噬。此外, 作为 ULK 复合体的重要组成成分, FIP200 的缺失会造成 MEF(mouse embryonic fibroblast) 的 Atg14-Atg1-WIPI 诱导缺陷<sup>[13,30]</sup>。然而, Efeyan 等<sup>[31]</sup>指出, Rag GTPases 活化后能够募集 mTORC1 进入到溶酶体表面导致自噬缺陷。除前述作用外, ApoG2 亦可抑制线粒体电子传递以产生 ROS(reactive oxygen species), ROS 通过提高 ERK(extracellular regulated protein kinases)、JNK(c-Jun N-terminal kinases)(靶作用于 Bim 和 Atg5) 的磷酸化水平, 加快 HMGB1(high-mobility group box 1) 从细胞核到细胞质的转运, 以及抑制 mTOR 信号, 启动细胞自噬。但 NAC(N-acetyl-cysteine) 可减弱 HMGB1 从细胞核到细胞质的转运, 诱导细胞凋亡和杀伤<sup>[27]</sup>。同样, EGFR 也可使 PI3K、Akt 和 mTOR 的酪氨酸磷酸化, 负调控细胞自噬。

**3.2.3 其他信号对细胞自噬的调控** 研究表明, 在细胞核中, p53 可通过 sestrin1/2 蛋白激活 AMPK-mTORC1 信号通路, 从而抑制 mTORC1 上调自噬水平; 也可通过激活 DAPK1(death-associated protein kinase 1), 磷酸化 Beclin1, 促进细胞自噬; 还能通过激活抗凋亡蛋白 Bcl-2 家族, 解除 Bcl-2/xL 与 Beclin1 之间的抑制作用而上调细胞自噬。而在细胞质中, p53 缺失的癌细胞的自噬水平上调, 重新载入 p53 后可下调细胞自噬水平<sup>[32-35]</sup>。还有研究表明, 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS) 可通过 TLR(Toll like receptor) 调节细胞自噬的水平。在天然免疫研究中发现, LPS 能诱导小鼠单核巨噬细胞和人巨噬细胞自噬体形成, 抑制 TLR4 后自噬体形成明显减少<sup>[36]</sup>。LPS/TLR4 信号通路介导的自噬可加强 TLR4 信号通路中髓样分化蛋白(myeloid differentiation factor 88, MyD88) 或 IFN 诱导接头蛋白[Toll/interleukin (IL)-1 receptor homology domain (TIR)-containing adaptor inducing interferon (IFN)- $\beta$ , TRIF] 与自噬蛋白 Beclin1 的相互作用, 抑制 Beclin1 和自噬信号通路中 Bcl-2 的结合, 增强 NF- $\kappa$ B 核转录因子的活性<sup>[37]</sup>。

此外, PI3K-Akt-FoxO 信号通路可介导谷氨酰胺合成酶的活化, 参与募集 Atg 蛋白, 提高 LC3 和 ULK2 的共定位水平<sup>[2]</sup>。ox-LDL(oxidized low-density lipoprotein) 极大地促进动脉粥样硬化的发生、发展, 适当浓度(10~40  $\mu$ g/mL) 的 ox-LDL 可激活保护性细胞自噬, 致使内皮细胞、血管细胞和巨噬细胞的溶酶体降解 ox-LDL<sup>[38]</sup>。

### 3.3 miRNA 对细胞自噬的调控

microRNA(miRNA) 是一类长约 22 nt 的内源性非编码小 RNA 分子, 在转录后水平调控基因的表达。研究表明, miRNA 参与细胞生长发育、炎症、肿瘤、衰老、凋亡等多种生理病理过程。近年来, 还发现 miRNA 参与了细胞自噬调控, 在自噬的发生和形成中发挥重要作用<sup>[3-5,8,21]</sup>。miRNA 与其靶 mRNA 3'-UTR 部分互补序列配对, 通过降解 mRNA 和/或抑制蛋白翻译来调控基因表达, 并且 miRNA 与其靶 mRNA 的序列同源性决定了是降解 mRNA 还是抑制翻译<sup>[39-40]</sup>。营养饥饿、缺氧、雷帕霉素等可诱导细胞自噬, 但多数 miRNA 在自噬过程的不同阶段可通过作用于 Atg 蛋白以拮抗这种诱导作用, 抑制细胞自噬, 对细胞造成伤害, 且无细胞特异性(表 1)。

**3.3.1 囊泡(吞噬泡)成核阶段** 在正常生长条件下, 抗凋亡蛋白家族 Bcl-2(包括 Bcl-2、Bcl-xL、Mcl-1、A1、Bcl-W 和 Rubicon) 与 Beclin1 结合能力最强, Beclin1 BH3 结构域与 Bcl-2 和/或 Bcl-xL 的疏水沟互作, 负调控 Beclin1-Vps34 PI3K-p150 核心复合体的形成和活性, 形成 Beclin1 同源二聚体抑制自噬; 当自噬被诱导时, Beclin1 与 Bcl-2 解离启动自噬<sup>[10-11,13,27]</sup>。此外, Beclin1 CCD(coiled-coil domain) 结构域也可与 Bcl-2 和/或 Bcl-xL 的 BH4 结构域互作<sup>[11,41]</sup>, 但 miR-376b<sup>[3]</sup>、miR-216a<sup>[4]</sup>、miR-30a<sup>[8,20,42-43]</sup>、miR-30d<sup>[44-45]</sup> 都可靶向 Beclin1, 抑制其表达, 减弱 Beclin1 与 Bcl-2 的结合和解离能力, 从而调控自噬。Atg9 作为唯一的跨膜蛋白, 定位于 PAS、线粒体和高尔基复合体, 启动脂质从生物膜转运到 PAS, 介导组装完整的囊泡膜<sup>[9]</sup>, 但 miR-34a 抑制 Atg9A 表达<sup>[9]</sup>, 中断囊泡成核。Atg14L 可以调节脂激酶 Vps34 活性, 并可募集 ULK1 以使 Beclin1 磷酸化<sup>[13]</sup>, 但 miR-195 靶抑制 Atg14<sup>[21]</sup>, 以抑制细胞自噬。PI3KC3 是 PI3K 复合体的核心蛋白, miR-338-5p 通过抑制 PI3KC3 的表达, 阻断囊泡成核, 从而负调控细胞自噬<sup>[18]</sup>。

**3.3.2 自噬体的成熟阶段** miR-216a<sup>[4]</sup>、miR-181-

表1 miRNA与细胞自噬调控关系(自噬抑制)

Table 1 The regulation between miRNA and autophagy (autophagy inhibition)

微小RNA miRNA	靶标 Target	参考文献 References	微小RNA miRNA	靶标 Target	参考文献 References
miR-101	STMN1 RAB5A Atg4D	[14]	miR-138	Mst1	[41]
miR-195	Atg14	[21]	miR-210	VMP1	[48]
miR-181A	Atg5	[6]	miR-199a-5p	Atg7	[15]
miR-34a	Atg9A (Unclear, SIRT1 Bcl-2)	[9]	miR-212/132	mTOR FoxO3 IGF-1/PI3K	[2,28]
miR-30d	Beclin1 Atg12 Atg5 Atg2	[44-45]	hsa-let-7g	(Unclear, LOX-1/ROS)	[38]
miR-30a	Beclin1 Atg5	[8,20,42-43]	miR-224	(Unclear, Smad4)	[40]
miR-204	LC3B	[1,7]	miR-23b	Atg12	[5]
miR-338-5p	PI3KC3	[18]	miR-22	HMGB1	[16]
miR-375	Atg7	[46]	miR-376b	Atg4C Beclin1	[3]
miR-130a	Atg2B DICER1	[49]	miR-216a	Beclin1 Atg5	[4]
miR-302b	EGFR	[39]			

a<sup>[6]</sup>、miR-30a<sup>[8,43]</sup>和 miR-30d<sup>[44]</sup>靶作用于 Atg5, miR-375、miR-199a-5p靶作用于 Atg7<sup>[15,46]</sup>, miR-23b、miR-30d靶作用于 Atg12<sup>[5,44-45]</sup>, 抑制泛素化蛋白表达, 负调控囊泡膜延伸。除可脂化 LC3-I 外, Atg4 酶 (Atg4B) 同样可以介导自噬体膜表面的 LC3 蛋白发生去脂化作用, 从而使细胞自噬循环利用 LC3 蛋白<sup>[3]</sup>。研究发现, miR-376b 靶作用于 Atg4C<sup>[3]</sup>、miR-101 靶作用于 Atg4D<sup>[44]</sup>以抑制细胞自噬。Suzuki 等<sup>[47]</sup>认为, LC3 侧链 lys<sup>49</sup>参与调控 LC3 和 Atg13 C-端 LIR (LC3 interacting region, 氨基酸序列 H<sup>441</sup>D<sup>442</sup>D<sup>443</sup>F<sup>444</sup>V<sup>445</sup>M<sup>446</sup>I<sup>447</sup>) 间的互作。miR-204 通过靶向抑制 LC3B 的表达<sup>[1,7]</sup>, 阻断 LC3B 的脂化, 从而抑制自噬体的成熟。LC3-II 与自噬体形成有关, 而未成熟的 LC3-I 是可溶的。因此, LC3-II 或 LC3-II/LC3-I 比值常用作自噬体形成的分子标记, 用于自噬现象的观察和分析<sup>[4,6-7]</sup>。

3.3.3 自噬溶酶体的融合阶段 研究认为, Atg8 不仅参与膜延伸, 且可经接头蛋白 LIR 结构将错误折叠或聚合蛋白质、受损细胞器、病原体募集到自噬体膜进行降解。酵母 Atg8 的哺乳动物同源蛋白有 7 种, 即 LC3A、LC3B、LC3C、GABARAP、

GABARAPL-1、GABARAPL-3、GABARAPL-2, 因此 LC3 亚型与 Atg13 LIR 亲和力的特异性也是影响自噬体形成的关键因素<sup>[47]</sup>。但 miR-204 通过靶抑制 LC3B 表达, 抑制自噬, 从而降低自噬溶酶体的分解能力。

此外, miR-22、miR-138、miR-302b、miR-210 分别靶作用于 HMGB1<sup>[16]</sup>、Mst1<sup>[41]</sup>、EGFR<sup>[39]</sup>、VMP1<sup>[48]</sup>, 且 miR-22 与 HMGB1、Mst1 与 miR-138、miR-302b 与 EGFR、miR-210 与 VMP1 均呈负相关, 这些 miRNA 通过抑制蛋白表达, 从而负调控前述细胞自噬信号通路。Ucar 等<sup>[2]</sup>认为, IGF-1 (insulin-like growth factor-1) 可上调 miR-212/132 的表达, 并且 miR-212/132 靶抑制 FoxO3 表达以致弱细胞自噬。miR-132 还可激活 PI3K-Akt-mTOR 信号通路, 抑制细胞自噬<sup>[28]</sup>。hsa-let-7g 可能通过下调 LOX-1、ROS 的表达, 以抑制细胞自噬<sup>[4,38]</sup>。miR-101 还可靶作用于 STMN1 (在一定程度上拮抗 miR-101 的抑制作用)、RAB5A<sup>[14]</sup>, miR-30d 靶作用于 Atg2<sup>[44-45]</sup>, miR-130a 靶作用于 Atg2B、DICER1<sup>[49]</sup>, miR-224 (可被自噬降解) 可能靶作用于 Smad4<sup>[40]</sup>, 这些均能够抑制细胞自噬。

研究还发现,除多数miRNA对细胞自噬有抑制作用外,少数miRNA也可增强细胞自噬水平(表2)。Wan等<sup>[26]</sup>认为,miR-155、miR-7可靶作用于mTOR信号多种分子,如RHEB、RICTOR和RPS6KB2等,负调控PI3K-Akt-mTOR信号通路,诱导细胞自噬。此外,miR-99a也可通过抑制mTOR信号<sup>[50]</sup>、miR-18a通过上调ATM的表达<sup>[19]</sup>以增强细胞自噬水平。

表2 miRNA与细胞自噬调控关系(自噬增强)

Table 2 The regulation between miRNA and autophagy (autophagy enhancement)

微小RNA	靶标	参考文献
miRNA	Target	Reference
miR-18a	ATM	[19]
miR-99a	mTOR/p70/S6K	[50]
miR-155	mTOR/RHB/RICTOR/RPS6KB2	[26]
miR-7	mTOR	[26]

目前,细胞自噬与miRNA关系的研究还处于初级阶段,关于miRNA如何参与调控自噬的研究有待进一步阐明。随着研究的深入,不同的miRNA在细胞自噬中的作用与机制将会更加清楚,对理解机体病理生理过程、抗感染以及天然免疫机制等方面具有重要意义。在自噬过程涉及的复杂的分子调节网络中,解析miRNA与细胞自噬关系,有助于寻找新的自噬调控靶点,也为揭示自噬分子调控机制提供新的思路和策略。

### 3.4 细胞自噬调控的其他机制

caspase属于半胱天冬氨酸蛋白酶(cysteinyll containing aspartate-specific protease),在正常细胞中,caspase以无活性的酶原形式存在。MOMP (mitochondrial outer membrane permeabilisation)是激活caspase的主要机制之一,细胞色素C进入到细胞质启动凋亡复合体的形成,激活caspase-9,caspase-9被裂解后激活caspase-3和caspase-7。细胞应激激活caspase,活化的caspase能够启动细胞降解,调控细胞凋亡<sup>[51]</sup>。研究发现,ATP合成增加能够抑制细胞自噬,而凋亡蛋白caspase Dcp-1调控自噬潮(autophagic flux)的发生。pro-Dcp-1在线粒体聚集,Dcp-1与核苷酸转移酶SesB互作,降低SesB的稳定性并下调ATP的合成,从而启动细胞自噬<sup>[52]</sup>。Atg16L1蛋白发生Thr300Ala/Thr316Ala突变,能够致使caspase-3对Atg16L1的降解敏感性增强,进一步影响自噬体的

形成。但此时,36 kDa和34 kDa裂解产物的出现,并不是由于caspase-3活性增强所造成的<sup>[25]</sup>。calpain是一种钙依赖性的半胱氨酸蛋白酶,可在Atg5蛋白的氨基末端进行裂解,产生一个相对分子质量为24 000的产物,从而驱使细胞自噬向细胞凋亡转变,将自噬与凋亡联系起来。除Atg5蛋白外,Becn1、Bax也是calpain的作用靶点,更说明自噬与凋亡有一定的关联性<sup>[53-55]</sup>。

AMPK(AMP-activated protein kinase)是一种异源三聚体,包括 $\alpha$ 催化亚基1个和调控型 $\beta$ 、 $\gamma$ 亚基各1个。多种应激因素可激活AMPK,AMPK活化后既可抑制自噬,又可激活自噬。细胞渗透性核苷酸类似物AICAR(AICA riboside)可以激活肝细胞AMPK,AMPK磷酸化水平的提高能够抑制细胞自噬,致使神经元胞内泛素化蛋白的累积;而在酵母和多种哺乳动物细胞内,AMPK的活化可以激活自噬。Yu等<sup>[56]</sup>认为,蛋白磷酸酶PP2A(protein phosphatase 2A)调控AMPK  $\alpha$ 和 $\gamma$ 亚基间的互作,使AMPK  $\alpha$ 亚基去磷酸化,从而使AMPK抑制mTOR磷酸化,启动细胞自噬。

研究还认为,蛋白乙酰化是多种细胞进程的关键调控机制。Yi等<sup>[57]</sup>对酿酒酵母进行遗传学分析证实,自噬过程必需组蛋白乙酰转移酶Esa1的参与,且Atg3是Esa1的作用底物。Atg3的K<sup>19</sup>和K<sup>48</sup>发生乙酰化,控制Atg3-Atg8互作和Atg8的脂化,进而调控细胞自噬。去除脱乙酰酶Rpd3后,提高K<sup>19</sup>-K<sup>48</sup>的乙酰化水平,可以增强细胞自噬。

## 4 结语与展望

在植物、酵母、蠕虫、鼠和人等真核生物中都发现细胞自噬现象,其与多种生理病理过程密切相关,成为生命科学领域研究的热点之一。虽然,目前的研究在一定程度上阐明了细胞自噬调控的分子机制,但极其复杂的自噬过程因位置、状态、环境、疾病的不同,信号通路、生物功能也会有所不同。因此,自噬体膜来源、自噬溶酶体融合机制、自噬相关蛋白功能、自噬调控网络以及尚存争议的自噬对细胞生存与死亡所发挥的双重作用等,仍待进一步研究,以期对人类预防和治疗肿瘤、免疫性疾病、神经退行性疾病和代谢性疾病等带来新的希望。

## 参考文献 (References)

- 1 Mikhaylova O, Stratton Y, Hall D, Kellner E, Ehmer B, Drew AF, *et al.* VHL-regulated MiR-204 suppresses tumor growth through inhibition of LC3B-mediated autophagy in renal clear cell carcinoma. *Cancer Cell* 2012; 21(4): 532-46.
- 2 Ucar A, Gupta SK, Fiedler J, Erikci E, Kardasinski M, Batkai S, *et al.* The miRNA-212/132 family regulates both cardiac hypertrophy and cardiomyocyte autophagy. *Nat Commun* 2012; 3: 1078.
- 3 Korkmaz G, le Sage C, Tekirdag KA, Agami R, Gozuacik D. MiR-376b controls starvation and mTOR inhibition-related autophagy by targeting ATG4C and BECN1. *Autophagy* 2012; 8(2): 165-76.
- 4 Menghini R, Casagrande V, Marino A, Marchetti V, Cardellini M, Stoehr R, *et al.* MiR-216a: A link between endothelial dysfunction and autophagy. *Cell Death Dis* 2014; 5(1): 1029-38.
- 5 Wang P, Zhang J, Zhang L, Zhu Z, Fan J, Chen L, *et al.* MicroRNA 23b regulates autophagy associated with radioresistance of pancreatic cancer cells. *Gastroenterology* 2013; 145(5): 1133-43.
- 6 Tekirdag KA, Korkmaz G, Ozturk DG, Agami R, Gozuacik D. MiR-181A regulates starvation- and rapamycin-induced autophagy through targeting of ATG5. *Autophagy* 2013; 9(3): 374-85.
- 7 Xiao J, Zhu X, He B, Zhang Y, Kang B, Wang Z, *et al.* MiR-204 regulates cardiomyocyte autophagy induced by ischemia-reperfusion through LC3-II. *J Biomed Sci* 2011; 18(1): 35-40.
- 8 Zou Z, Wu L, Ding H, Wang Y, Zhang Y, Chen X, *et al.* MicroRNA-30a sensitizes tumor cells to cis-platinum via suppressing beclin 1-mediated autophagy. *J Biol Chem* 2012; 287(6): 4148-56.
- 9 Yang J, Chen D, He Y, Meléndez A, Feng Z, Hong Q, *et al.* MiR-34 modulates *Caenorhabditis elegans* lifespan via repressing the autophagy gene atg9. *Age (Dordr)* 2013; 35(1): 11-22.
- 10 Molejon MI, Ropolo A, Re AL, Boggio V, Vaccaro MI. The VMP1-Beclin 1 interaction regulates autophagy induction. *Sci Rep* 2013; 3: 1055.
- 11 Maejima Y, Kyo S, Zhai P, Liu T, Li H, Ivessa A, *et al.* Mst1 inhibits autophagy by promoting the interaction between Beclin1 and Bcl-2. *Nat Med* 2013; 19(11): 1478-88.
- 12 Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, Pitiakoudis M, Gatter KC, Harris AL. Beclin 1 over- and underexpression in colorectal cancer: Distinct patterns relate to prognosis and tumour hypoxia. *Br J Cancer* 2010; 103(8): 1209-14.
- 13 Russell RC, Tian Y, Yuan H, Park HW, Chang YY, Kim J, *et al.* ULK1 induces autophagy by phosphorylating Beclin-1 and activating VPS34 lipid kinase. *Nat Cell Biol* 2013; 15(7): 741-50.
- 14 Frankel LB, Wen J, Lees M, Hoyer-Hansen M, Farkas T, Krogh A, *et al.* microRNA-101 is a potent inhibitor of autophagy. *EMBO J* 2011; 30(22): 4628-41.
- 15 Xu N, Zhang J, Shen C, Luo Y, Xia L, Xue F, *et al.* Cisplatin-induced downregulation of miR-199a-5p increases drug resistance by activating autophagy in HCC cell. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 423(4): 826-31.
- 16 Li X, Wang S, Chen Y, Liu G, Yang X. miR-22 targets the 3' UTR of HMGB1 and inhibits the HMGB1-associated autophagy in osteosarcoma cells during chemotherapy. *Tumor Biol* 2014; 35(6): 6021-8.
- 17 van der Vos KE, Eliasson P, Proikas-Cezanne T, Vervoort SJ, van Bostel R, Putker M, *et al.* Modulation of glutamine metabolism by the PI(3)K-PKB-FOXO network regulates autophagy. *Nat Cell Biol* 2012; 14(8): 829-37.
- 18 Ju J, Huang C, Lan S, Wang T, Lin P, Lee JC, *et al.* Characterization of a colorectal cancer migration and autophagy-related microRNA miR-338-5p and its target gene PIK3C3. *Biomarkers Genomic Med* 2013; 5(3): 74-8.
- 19 Qased AB, Yi H, Liang N, Ma S, Qiao S, Liu X. MicroRNA-18a upregulates autophagy and ataxia telangiectasi mutated gene expression in HCT116 colon cancer cells. *Mol Med Rep* 2013; 7(2): 559-64.
- 20 Zhu H, Wu H, Liu X, Li B, Chen Y, Ren X, *et al.* Regulation of autophagy by a beclin 1-targeted microRNA, miR-30a, in cancer cells. *Autophagy* 2009; 5(6): 816-23.
- 21 Shi G, Shi J, Liu K, Liu N, Wang Y, Fu Z, *et al.* Increased miR-195 aggravates neuropathic pain by inhibiting autophagy following peripheral nerve injury. *Glia* 2013; 61(4): 504-12.
- 22 Mojsa B, Lassot I, Desagher S. Mcl-1 ubiquitination: Unique regulation of an essential survival protein. *Cells* 2014; 3(2): 418-37.
- 23 Chang TK, Shrivage BV, Hayes SD, Powers CM, Simin RT, Wade Harper J, *et al.* Uba1 functions in Atg7- and Atg3-independent autophagy. *Nat Cell Biol* 2013; 15(9): 1067-78.
- 24 Kaufmann A, Beier V, Franquelin HG, Wollert T. Molecular mechanism of autophagic membrane-scaffold assembly and disassembly. *Cell* 2014; 156(3): 469-81.
- 25 Murthy A, Li Y, Peng I, Reichelt M, Katakam AK, Noubade R, *et al.* A Crohn's disease variant in Atg16L1 enhances its degradation by caspase 3. *Nature* 2014; 506(7489): 456-62.
- 26 Wan G, Xie W, Liu Z, Xu W, Lao Y, Huang N, *et al.* Hypoxia-induced MiR-155 is a potent autophagy inducer by targeting multiple players in the MTOR pathway. *Autophagy* 2014; 10(1): 70-9.
- 27 Cheng P, Ni Z, Dai X, Wang B, Ding W, Rae Smith A, *et al.* The novel BH-3 mimetic apogossypolone induces Beclin-1- and ROS-mediated autophagy in human hepatocellular carcinoma cells. *Cell Death Dis* 2013; 4: e489.
- 28 Qi L, Zhang Y. The microRNA 132 Regulates fluid shear stress-induced differentiation in periodontal ligament cells through mTOR signaling pathway. *Cellr Physiol Biochem* 2014; 33(2): 433-45.
- 29 Wei Y, Zou Z, Becker N, Anderson M, Sumpter R, Xiao G, *et al.* EGFR-mediated Beclin 1 phosphorylation in autophagy suppression, tumor progression, and tumor chemoresistance. *Cell* 2013; 154(6): 1269-84.
- 30 He S, Ni D, Ma B, Lee JH, Zhang T, Ghozalli I, *et al.* PtdIns(3) P-bound UVRAG coordinates Golg-ER retrograde and Atg9 transport by differential interactions with the ER tether and the beclin 1 complex. *Nat Cell Biol* 2013; 15(10): 1206-19.
- 31 Efeyan A, Zoncu R, Chang S, Gumper I, Snitkin H, Wolfson RL, *et al.* Regulation of mTORC1 by the Rag GTPases is necessary for neonatal autophagy and survival. *Nature* 2013; 493(7434): 679-83.
- 32 Lomonosova E, Chinnadurai G. BH3-only proteins in apoptosis and beyond: An overview. *Oncogene* 2008; 27(1): S2-19.

- 33 Ryan KM. p53 and autophagy in cancer: Guardian of the genome meets guardian of the proteome. *Eur J Cancer* 2011; 47: 44-50.
- 34 Budanov AV, Karin M. The p53-regulated Sestrin gene products inhibit mTOR signaling. *Cell* 2008; 134(3): 451-60.
- 35 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.
- 36 Xu Y, Jagannath C, Liu XD, Sharafkhaneh A, Kolodziejka KE, Eissa NT. Toll-like receptor 4 is a sensor for autophagy associated with innate immunity. *Immunity* 2007; 27(1): 135-44.
- 37 Into T, Inomata M, Takayama E, Takigawa T. Autophagy in regulation of Toll-like receptor signaling. *Cell Signal* 2012; 24(6): 1150-62.
- 38 Ding Z, Wang X, Schnackenberg L, Khaidakov M, Liu S, Singla S, *et al.* Regulation of autophagy and apoptosis in response to ox-LDL in vascular smooth muscle cells, and the modulatory effects of the microRNA hsa-let-7g. *Int J Cardiol* 2013; 168(2): 1378-85.
- 39 Wang L, Yao J, Shi X, Hu L, Li Z, Song T, *et al.* microRNA-302b suppresses cell proliferation by targeting EGFR in human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells. *BMC Cancer* 2013; 13: 448.
- 40 Lan SH, Wu SY, Zuchini R, Lin XZ, Su IJ, Tsai TF, *et al.* Autophagy suppresses tumorigenesis of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma through degradation of microRNA-224. *Hepatology* 2014; 59(2): 505-17.
- 41 Li S, Ran Y, Zhang D, Chen J, Li S, Zhu D. microRNA-138 plays a role in hypoxic pulmonary vascular remodelling by targeting Mst1. *Biochem J* 2013; 452(2): 281-91.
- 42 Pan W, Zhong Y, Cheng C, Liu B, Wang L, Li A, *et al.* MiR-30-Regulated Autophagy mediates angiotensin II-induced myocardial hypertrophy. *PLoS One* 2013; 8(1): e53950.
- 43 Yu Y, Yang L, Zhao M, Zhu S, Kang R, Vernon P, *et al.* Targeting microRNA-30a-mediated autophagy enhances imatinib activity against human chronic myeloid leukemia cells. *Leukemia* 2012; 26(8): 1752-60.
- 44 Yang X, Zhong X, Tanyi JL, Shen J, Xu C, Gao P, *et al.* MiR-30d regulates multiple genes in the autophagy pathway and impairs autophagy process in human cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 431(3): 617-22.
- 45 Zhang Y, Yang WQ, Zhu H, Qian YY, Zhou L, Ren YJ, *et al.* Regulation of autophagy by miR-30d impacts sensitivity of anaplastic thyroid carcinoma to cisplatin. *Biochem Pharmacol* 2014; 87(4): 562-70.
- 46 Chang Y, Yan W, He X, Zhang L, Li C, Huang H, *et al.* miR-375 inhibits autophagy and reduces viability of hepatocellular carcinoma cells under hypoxic conditions. *Gastroenterology* 2012; 143(1): 177-87.
- 47 Suzuki H, Tabata K, Morita E, Kawasaki M, Kato R, Dobson RC, *et al.* Structural basis of the autophagy-related LC3/Atg13 LIR complex: Recognition and interaction mechanism. *Structure* 2014; 22(1): 47-58.
- 48 Ying Q, Liang L, Guo W, Zha R, Tian Q, Huang S, *et al.* Hypoxia-inducible microRNA-210 augments the metastatic potential of tumor cells by targeting vacuole membrane protein 1 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 54(6): 2064-75.
- 49 Kovaleva V, Mora R, Park YJ, Plass C, Chiramel AI, Bartschlagler R, *et al.* miRNA-130a targets ATG2B and DICER1 to inhibit autophagy and trigger killing of chronic lymphocytic leukemia cells. *Cancer Res* 2012; 72(7): 1763-72.
- 50 Li Q, Xie J, Li R, Shi J, Sun J, Gu R, *et al.* Overexpression of microRNA-99a attenuates heart remodelling and improves cardiac performance after myocardial infarction. *J Cell Mol Med* 2014; 18(5): 919-28.
- 51 Mnich K, Carleton LA, Kavanagh ET, Doyle KM, Samali A, Gorman AM. Nerve growth factor-mediated inhibition of apoptosis post-caspase activation is due to removal of active caspase-3 in a lysosome-dependent manner. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1202.
- 52 Ben Short. Mitochondrial caspase keeps autophagy in flux. *J Cell Biol* 2014; 205: 431.
- 53 Russo R, Berliocchi L, Adornetto A, Varano GP, Cavaliere F, Nucci C, *et al.* Calpain-mediated cleavage of Beclin-1 and autophagy deregulation following retinal ischemic injury *in vivo*. *Cell Death Dis* 2011; 2: e144.
- 54 Yousefi S, Perozzo R, Schmid I, Ziemiecki A, Schaffner T, Scapozza L, *et al.* Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis. *Nat Cell Biol* 2006; 8(10): 1124-32.
- 55 Song F, Han X, Zeng T, Zhang C, Zou C, Xie K. Changes in beclin-1 and micro-calpain expression in tri-ortho-cresyl phosphate-induced delayed neuropathy. *Toxicol Lett* 2012; 210(3): 276-84.
- 56 Yu HC, Lin CS, Tai WT, Liu CY, Shiau CW, Chen KF. Nilotinib induces autophagy in hepatocellular carcinoma through AMPK activation. *J Biol Chem* 2013; 25(288): 18249-59.
- 57 Yi C, Ma M, Ran L, Zheng J, Tong J, Zhu J, *et al.* Function and molecular mechanism of acetylation in autophagy regulation. *Science* 2012; 336(6080): 474-7.