

## 综述

## 自噬与椎间盘退变关系的研究进展

敖鹏<sup>1</sup> 殷嫦嫦<sup>2</sup> 吴添龙<sup>1</sup> 黄文舟<sup>1</sup> 程细高<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>南昌大学第二附属医院骨科, 江西省骨科研究所, 南昌 330006;<sup>2</sup>九江学院基础医学院, 九江市转化医学重点实验室, 九江 332000)

**摘要** 自噬是一种将细胞内受损、变性、衰老的细胞器或蛋白质运输到自噬溶酶体中进行降解、循环与再利用的生物学过程。近年来研究发现, 细胞自噬存在于多数退行性疾病中, 其中包括骨性关节炎以及椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)。椎间盘退变是各种退行性脊柱疾病的病理基础, 是导致下腰痛的主要原因。有研究发现, 在退变的椎间盘细胞中存在不同水平的自噬, 但是椎间盘退变中自噬的确切作用目前仍然存在争议。因此有必要深入了解髓核细胞自身的自噬作用及其对细胞生存的影响, 这对退行性椎间盘疾病的预防和治疗具有重要的临床意义。该文概要地介绍了自噬作用和过程的最新研究进展, 并着重总结自噬与椎间盘退变的关系。

**关键词** 自噬; 椎间盘退变; 分子机制

## Progress in Association between Autophagy and Intervertebral Disc Degeneration

Ao Peng<sup>1</sup>, Yin Changchang<sup>2</sup>, Wu Tianlong<sup>1</sup>, Huang Wenzhou<sup>1</sup>, Cheng Xigao<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>Department of Orthopedics, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China;<sup>2</sup>Basic Medical College, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China)

**Abstract** Autophagy is a life-sustaining process used by the cell to deliver cytoplasmic components to the lysosome for degradation and recycle. In recent years, It is reported that there exists autophagy in degenerative disease, including osteoarthritis and intervertebral disc degeneration (IDD). As a main contributing factor to low back pain, IDD is the pathological basis for various debilitating spinal diseases. Either higher or lower levels of autophagy are observed in degenerative intervertebral disc (IVD) cells. Although the precise role of autophagy in disc degeneration is still controversial, but we believed that understanding the autophagy response of nucleus pulposus (NP) cells and its role in cell survival had important clinical significance in the prevention and treatment of degenerative discogenic diseases. In this review, we briefly summarize recent progress in understanding the function and process of autophagy. In particular, we focus on studies that reveal the relationship between autophagy and IVD degeneration.

**Keywords** autophagy; intervertebral disc degeneration; molecule mechanism

收稿日期: 2016-05-17 接受日期: 2015-08-17

国家自然科学基金(批准号: 81060147)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0791-86300706, E-mail: 1241144873@qq.com

Received: May 17, 2016 Accepted: August 17, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81060147)

\*Corresponding author. Tel: 86+791-86300706, E-mail: 1241144873@qq.com

网络出版时间: 2016-11-15 11:02:52

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161115.1102.012.html>

椎间盘位于两个椎体之间,由软骨终板、纤维环和髓核3种相互依存但结构不同的部分构成,髓核位于椎间盘的中央部位,是由软骨细胞和蛋白聚糖黏液样基质构成的弹性胶冻物质。髓核与包裹它上下面的软骨终板、周围的纤维环共同构成对抗重力和张力的闭合缓冲系统<sup>[1-2]</sup>。纤维环是一种厚而致密的结构,它分为外、中、内3层,呈同心圆排列的纤维构架,外层主要为I型胶原(type I collagen, Col I)和相对含量较低的蛋白聚糖和水分。内环则恰恰与之相反,内环包含更多的纤维、I型胶原和II型胶原,并且蛋白聚糖的含量也较高。软骨终板起保护椎骨、缓冲压力、连接椎体和椎间盘之间的营养交换的作用。正常的椎间盘几乎完全没有血管和神经<sup>[3-4]</sup>。正是由于这些结构特点使其可以保持脊柱的灵活性和机械稳定性,也是由于同样的原因使其容易产生退变。

作为脊柱疾病最常见的症状之一,下腰痛(low back pain, LBP)已经成为全球非常严重的公共卫生问题,有研究显示,大约有84%的人在一生中有过严重的LBP病史<sup>[5]</sup>。根据一项研究表明,在美国因LBP所导致的经济损失达到了1 000亿美元<sup>[6]</sup>。LBP的明确机理尚未完全清楚,目前认为与LBP有密切关系的包括椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)、小关节突关节的骨关节炎以及韧带和肌肉的病变,其中最主要的还是IDD。目前的研究发现,椎间盘细胞死亡数量增加、细胞外基质丢失、正常椎间盘细胞表型的改变以及过度的炎症反应这几个因素是导致IDD的关键因素<sup>[7-8]</sup>。椎间盘内的髓核细胞通过分泌细胞外基质维持椎间盘的功能,其数量减少和随之带来的细胞外基质代谢失衡是椎间盘退变的病理生理变化基础。

目前IDD的治疗策略主要以减轻临床症状为主,包括保守治疗和外科手术。如果保守治疗失败,那么通常会选择通过外科手术来减轻疼痛。然而,这些治疗措施仅仅是对临床症状的改善,而不是彻底的解决病因。最近,通过促进细胞外基质的修复与再生来防止椎间盘退变的生物治疗方法已经得到了发展,其中包括基因治疗<sup>[9-10]</sup>、基于干细胞的组织工程<sup>[11-12]</sup>、调控椎间盘退变的生物因素<sup>[13]</sup>以及microRNA的治疗方法<sup>[14-15]</sup>。随着研究的不断突破,这些新的方法也许可以替代手术,用于椎间盘退变的早期干预。

自噬,从字面上理解是“自我吞噬”,半个多世纪前在希腊被发现,它是一个从酵母-植物-蠕虫-苍蝇-哺乳动物的保守进化的过程。它最重要的机制之一是通过在正常生理条件或者应激反应中降解细胞中的大分子和受损的细胞器来维持细胞内环境的稳定和完整性<sup>[16-17]</sup>。

近年来,自噬成为了一个研究的热点,越来越多的研究表明,自噬广泛参与许多退变性疾病的发展,包括骨性关节炎<sup>[18-19]</sup>、神经退行性疾病<sup>[16,20]</sup>和椎间盘退变<sup>[21]</sup>。本文主要根据近期文献资料,阐述自噬的基本过程及其在椎间盘退变中所起的作用<sup>[18]</sup>。

## 1 IDD的病因

虽然椎间盘退变的确切病因尚不明确,但是越来越多的证据表明,IDD是由遗传和环境相互作用的结果<sup>[22-23]</sup>。不健康的生活方式、长期负重、体重过重、职业习惯、外伤都是导致椎间盘退变和突出的危险因素<sup>[24-26]</sup>。另一方面,通过对参与椎间盘退变多个关键基因的研究确定,遗传也参与椎间盘退变的过程,这些基因包括ADAMTS-4(metalloprotease with thrombospondin motif-4)、ADAMTS-5、MMP-2(matrix metalloproteinase-2)、MMP-3、MMP-9、MMP-14<sup>[27-30]</sup>。上述研究表明,IDD的病因是复杂的多种基因相互作用的过程。最近,Videman等<sup>[31]</sup>确定了25种与椎间盘退行性疾病有关的基因。另一方面,Kalichman等<sup>[32]</sup>揭示了椎间盘退变的家族性遗传存在很高的遗传性,在脊柱的不同节段遗传的概率从34%到61%不等。通过研究发现,细胞自噬的发生发展与这些基因的表达有密切的关系<sup>[52-53]</sup>。

## 2 自噬的类型以及自噬的分子机制

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。自噬分为3种:巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy)。通常所说的自噬即是巨自噬,巨自噬也是目前研究最为清楚的自噬。

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(图1)<sup>[33]</sup>。

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,自噬前体是隔离

膜形成的核心物质<sup>[34]</sup>。ATG1(autophagy-related 1)是启动自噬的关键蛋白激酶,属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,与哺乳动物ULK1/2(uncoordinated-51-like kinase1/2)蛋白同源<sup>[35]</sup>。当基因出现错误表达时,ATG1可以充分激活自噬<sup>[36]</sup>。ATG1/ULK1以复合物的形式存在,自噬中心调控分子TORC1(target of rapamycin complex 1)对ATG1复合物有抑制作用<sup>[37]</sup>。ATG1复合物被认为是形成自噬发生的原核<sup>[38]</sup>,ATG13、FIP200(focal adhesion kinase family interacting protein of 200 kDa)及ATG101也参与该复合物之中,这些蛋白质与ATG1的相互作用对维持ATG1的稳定性和激酶活性十分重要。ATG1的激酶活性是自噬必不可少的一部分,它可以使ATG9磷酸化,从而使ATG9和ATG18进行相互作用,而这一过程是触发自噬的关键因素并且最终使ATG8进入自噬前体(preautophagosomal structure, PSA)<sup>[39]</sup>。

VPS34[vacuolar protein sorting 34, 也称 III 型 PI3K(phosphatidylinositol 3 kinase)]复合物由VPS34、Beclin1与VPS15组成,该复合物中VPS34因结合VPS15而被激活,并进一步结合 Beclin1形成 VPS34-VPS15-Beclin1复合体。自噬发生时,VPS34-VPS15-Beclin1复合体和多种自噬相关蛋白结合,传递自噬信号促进自噬发生。此外,自噬发生过程中有2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连接系统和ATG8/LC3连接系统中,类E1泛素活化酶ATG7作为活化酶<sup>[40]</sup>。在ATG12连接系统中,ATG12的C-端甘氨酸残基先被类E1泛素活化酶ATG7活化,然后ATG12被传递给类E2泛素转移酶ATG10,随后,ATG12被传递到ATG5并以ATG12-ATG5复合物的形式存在。自噬发生时,ATG16和ATG12-ATG5结合,形成ATG5-ATG12-ATG16复合物,此复合物定位于隔离膜上,参与LC3-II(microtubule-associated protein light chain 3-II)的形成过程,从而促进自噬泡膜的延长<sup>[41]</sup>。在ATG8/LC3连接系统中,酵母ATG8分子与在哺乳动物中的LC3是同源物,ATG8的其他同源物还有GABARAP(GABA<sub>A</sub> receptor-associated protein)和GATE16(Golgi-associated ATPase enhancer of 16 kDa)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>[42]</sup>。LC3目前已经被认为是自噬发生以及检查的标志性蛋白。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,并最终在ATG5-ATG12-ATG16复合物的帮助下形成具有膜结合能力的LC3-II,从而促进自噬泡膜的延长<sup>[43-44]</sup>。

最后,延长的自噬泡与溶酶体结合,分解细胞内大分子及受损的细胞器,至此完成整个细胞自噬过程。

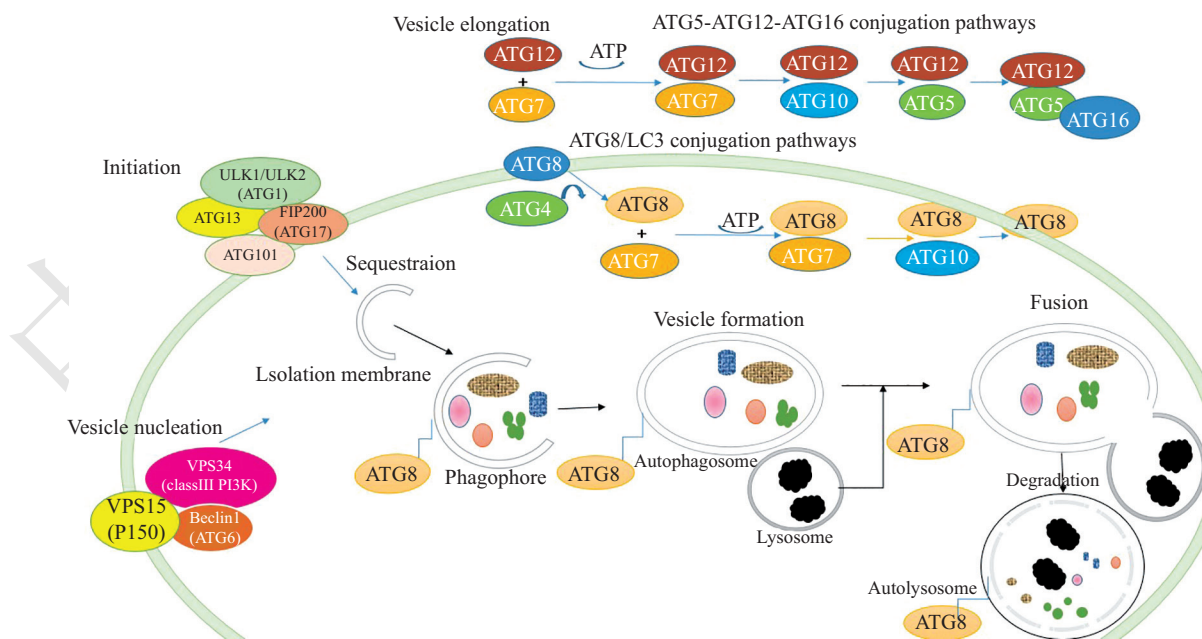


图1 自噬发生过程示意图

Fig.1 Schematic model of autophagy

### 3 自噬与椎间盘退变

自噬是一个保守的细胞过程, 发生在所有类型的细胞的整个生命过程。在正常生理状态下, 从没有出现退变的成年大鼠中分离出来的髓核细胞和纤维环细胞发现了较低水平的自噬, 这表明自噬参与维持髓核细胞的完整性以及正常生存状态<sup>[45]</sup>。然而, 营养剥夺处理大鼠髓核细胞6、12、18周后, 试验组Beclin1和LC3-II/LC3-I的蛋白的比例明显高于对照组, 因此在退变的大鼠髓核细胞中自噬明显增加<sup>[46]</sup>。与此类似, 与正常人的纤维环组织标本相比较, 退变的纤维环组织自噬相关基因上调更加明显, 并且通过透射电镜观察可发现自噬囊泡和自噬体数目增多并且结构更加复杂<sup>[47]</sup>。相反, 一项最新研究证明, 与腰椎骨折的患者相比较, 腰椎椎间盘突出患者自噬体的数量更少, Beclin1和LC3的表达量以及LC3-II/LC3-I的比率都更低<sup>[48]</sup>。上述数据在分子生物学和形态学水平上提供了足够的证据证明在退变椎间盘细胞中存在自噬, 揭示了自噬在椎间盘退变中可能扮演者不同的角色。目前, 在椎间盘退变中没有特异的分子诊断标志物。鉴于自噬与椎间盘退变的过程密切相关, 自噬对于椎间盘退变生物诊断可能具有潜在的价值。随着研究的深入, 自噬相关蛋白质可能成为有效的椎间盘退变生物标志物。

#### 3.1 自噬可以防止椎间盘退变

细胞外基质(包括蛋白聚糖和II型胶原)逐渐减少是椎间盘退变的典型病理特征<sup>[49]</sup>。MMPs和ADAMTSs是引起细胞外基质降解的主要酶, 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和白介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )等主要的促炎性细胞因子在退变的椎间盘中都有极高的表达, 并且这些促炎性细胞因子已经被证明可以提高MMPs和ADAMTSs的水平<sup>[50-51]</sup>。大鼠髓核细胞与TNF- $\alpha$ 或者IL-1 $\beta$ 共培养时, 自噬相关基因的表达没有改变; 然而, 加入雷帕霉素(一种自噬激活剂)后发现, MMP-3、MMP-9和ADAMTS-4的表达水平下降, 当加入3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA, 一种自噬抑制剂)后却出现与前面相反的现象<sup>[52]</sup>。Wang等<sup>[53]</sup>在髓核细胞中研究发现, 白藜芦醇(resveratrol, RSV)可以通过激活自噬抑制TNF- $\alpha$ 诱导的MMP-3的表达, 从而到达保护髓核细胞的作用。因此, 细胞自噬似乎有助于防止炎症条件下细胞外基质的降解并且对的椎间盘退变起到保护作用。

凋亡是一类重要的细胞程序性死亡方式, 在人的一生中椎间盘细胞会因为凋亡的存在而持续的丢失, 椎间盘细胞的过度凋亡被认为是椎间盘退变的一个重要原因<sup>[54-57]</sup>。自噬是一个独立的II型程序性细胞死亡过程, 但是研究表明, 细胞自噬与凋亡之间存在着密切的联系<sup>[58-59]</sup>。Jiang等<sup>[60]</sup>在研究中发现, SIRT1(silent information regulation 2 homolog 1)可以通过上调自噬作用, 来抑制人退变髓核细胞的凋亡与此类似。Miyazaki等<sup>[61]</sup>研究也发现, SIRT1可以通过诱导自噬来抑制由血清剥夺诱导的人髓核细胞的凋亡。这些研究表明, 自噬参与SIRT1对髓核细胞的保护作用, 并且在小鼠椎间盘退变模型中, 通过添加SIRT1激动剂白藜芦醇, 可以改善小鼠椎间盘退变细胞的凋亡情况并且促进II型胶原酶的产生<sup>[62]</sup>。因此, SIRT1可能是治疗椎间盘退行性疾病的一种有效的药物靶点。

与SIRT1不同, IL-1 $\beta$ 被认为是导致椎间盘退变的一个重要因素<sup>[50]</sup>。据报道, 在血清剥夺条件下, 大鼠AF(annulus fibrosus)细胞自噬的增加与IL-1 $\beta$ 呈剂量依赖性。然而在血清未剥夺的情况下, 即使使用IL-1 $\beta$ 的量为50  $\mu\text{g/mL}$ , 并且作用于AF细胞36 h, IL-1 $\beta$ 仍然不能诱导出细胞自噬<sup>[63]</sup>。这表明, 单独使用IL-1 $\beta$ 不能产生足够的刺激来诱导AF细胞发生自噬现象。此外, 同种细胞在血清剥夺条件下使用自噬抑制剂3-MA抑制自噬时, 细胞的凋亡率上升<sup>[64]</sup>。因此, 自噬可能在AF细胞抗凋亡和椎间盘退变中是一种保护机制。

虽然NP细胞在椎间盘中是处于一个高渗透压的环境中, 但是这些细胞仍然可以在这种微环境中生存<sup>[64]</sup>。细胞数目随着年龄的增长而变化。在青少年阶段的NP组织细胞主要是由脊索细胞。据报道, 从3月龄大鼠分离的脊索细胞在高渗应激下可以通过Ca<sup>2+</sup>依赖的MAPK(AMP-activated protein kinase)和mTOR(mammalian target of rapamycin)信号通路激活自噬<sup>[66]</sup>。此外, 抑制自噬会导致细胞活力显著下降, 最终使细胞凋亡增加<sup>[65]</sup>。总之, 自噬可能是椎间盘中脊索细胞在高渗应激下为了保持活力发生的一种自适应机制。

椎间盘软骨终板钙化导致扩散进入椎间盘的营养物减少, 从而使髓核细胞的稳定性以及活性发生破坏, 进而导致椎间盘发生退变, 最终使细胞凋亡以及细胞外基质降解<sup>[66]</sup>。有文献报道, 激活自噬可以改善平滑肌细胞的钙化<sup>[67-68]</sup>。Xu等<sup>[69]</sup>通过使用间歇循环机械张力(intermittent cyclic mechanical tension, ICMT)

方法可以通过下调转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$ , TGF- $\beta 1$ )的表达诱导大鼠软骨终板的钙化。在随后的研究中发现,培养同一类细胞,处于ICMT条件下的细胞可以观察到自噬水平明显降低而且钙化程度增加,然而由ICMT条件下产生的钙化在加入自噬激活剂雷帕霉素后,出现了逆转现象<sup>[70]</sup>。因此,自噬可能在由ICMT引起的软骨终板钙化的过程起到一定的保护作用。

压力是引起椎间盘髓核细胞凋亡、坏死,进而导致椎间盘退变的一个关键因素,关于压力导致髓核细胞死亡的研究非常多见。最近有一项关于不同压力下大鼠髓核细胞死亡的研究表明,自噬参与压力诱导的大鼠髓核细胞损伤、死亡,压力应激条件下自噬与凋亡均参与髓核细胞损伤,并且在压力诱导下髓核细胞损伤过程中自噬与凋亡是紧密相关的,抑制自噬可以促进髓核细胞凋亡发生,抑制凋亡可促进髓核细胞自噬发生。此结果将为压力诱导自噬在椎间盘退行性变的防治方面提供新思路<sup>[71]</sup>。

### 3.2 自噬促进椎间盘退变

椎间盘是人体内最大的无血管组织,其能量来源主要是通过糖酵解途径<sup>[72]</sup>。若糖酵解途径增强会产生高浓度的乳酸,而高浓度的乳酸会导致椎间盘糖蛋白的合成减少,乳酸的堆积已被证明会减少蛋白聚糖合成进而导致椎间盘退变<sup>[74]</sup>。有研究表明,吸烟由于可以显著的增加椎间盘内乳酸的聚集从而使椎间盘退变<sup>[75]</sup>。还有研究表明,高浓度的乳酸会使大鼠髓核细胞凋亡增加并且上调自噬标记基因*Beclin1*和*LC3-II*的量,II型胶原的含量却随之下降,这个研究说明,自噬可能在高浓度乳酸引起椎间盘退变中起关键作用<sup>[76]</sup>。由于正常椎间盘无血管,椎间盘的营养供应通过血管里营养(葡萄糖、氨基酸和氧气)扩散到椎间盘边缘供应,并且通过同样的方式将代谢物通过血管排出<sup>[77]</sup>,这种营养供应模式使得椎间盘通常会遭受营养供应不足的问题。氨基酸作为一种重要的营养物质材料,它的缺少会导致细胞外基质的成分发生变化<sup>[78]</sup>。已有研究发现,在大鼠肝癌细胞和肝细胞中氨基酸缺乏会诱导出自噬<sup>[79]</sup>。与此研究类似,Ye等<sup>[80]</sup>发现,在氨基酸缺乏条件下培养的大鼠AF细胞,自噬水平呈时间依赖性。此外,氨基酸缺乏条件下,在退变的大鼠椎间盘细胞的LC3-II与LC3-I的比率明显高于正常组<sup>[80]</sup>。

糖尿病是人类最常见的代谢性疾病,并且它是

椎间盘退变的一个重要病因<sup>[81]</sup>。很多文献报道了高糖可诱导自噬,Kong等<sup>[82]</sup>通过高糖诱导24周大鼠的髓核细胞发现,*Beclin1*、*LC3-II*、*Atg3*、*Atg5*、*Atg7*、*Atg12*等自噬标记基因表达呈剂量和时间依赖性。还有研究报道称,在糖尿病性大鼠椎间盘退变中,观察到了较高的自噬水平<sup>[83]</sup>。这些研究结果表明,自噬的增加可能参与糖尿病相关性椎间盘退变,而抑制椎间盘细胞的自噬可能是延缓糖尿病患者椎间盘退变的一种新的治疗策略。

细胞凋亡和自噬是细胞两种程序性死亡方式。研究表明,自噬与凋亡存在相互影响的关系,自噬可以促进或抑制细胞凋亡的发生<sup>[84-85]</sup>。TGF- $\beta 1$ 是软骨和脊柱组织生长发育的关键因素,在体内和体外研究中有越来越多的证据证明,TGF- $\beta 1$ 通过抑制炎症反应<sup>[86]</sup>、促进细胞外基质的合成<sup>[87]</sup>和抑制细胞凋亡<sup>[88]</sup>来阻止椎间盘退变。但是有研究发现,TGF- $\beta 1$ 在凋亡和自噬之间所起到的作用在不同类型的细胞中是不一样的。TGF- $\beta 1$ 在肾小球系膜细胞中通过诱导细胞自噬来抑制系膜细胞的凋亡<sup>[83]</sup>,但是在肾小管上皮细胞、牛乳腺上皮细胞和人肝癌细胞中却是诱导自噬后促进细胞的凋亡<sup>[90]</sup>。如上文所述,在营养剥夺条件下SIRT1可以通过诱导自噬抑制人类髓核细胞凋亡<sup>[60-62]</sup>。不同于SIRT1,Ni等<sup>[91]</sup>研究发现,大鼠AF细胞在饥饿条件下TGF- $\beta 1$ 通过激活PI3K/Akt/mTOR和ERK1/2信号通路抑制过度自噬从而抑制细胞凋亡。这表明,自噬可能在TGF- $\beta 1$ 防止椎间盘退变中发挥着相反的作用。众所周知,随着年龄增长,机体氧化应激水平升高,活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)蓄积,进而造成椎间盘组织细胞外基质的破坏以及髓核细胞的凋亡。最近,Chen等<sup>[92]</sup>发现, $H_2O_2$ 刺激大鼠髓核细胞后,细胞的凋亡和自噬水平都上升,但是抑制自噬后细胞的凋亡率却出现了下降,因此得出结论,控制氧化应激诱导的髓核细胞自噬,可以减少细胞的凋亡并且有可能延缓椎间盘退变的过程。上述研究结果表明,在不同情况下的椎间盘细胞自噬与凋亡之间的复杂关系还有待进一步研究。

过度或不适当的压力刺激椎间盘被认为是促进椎间盘退变的一个重要因素<sup>[93]</sup>。压力直接影响II型胶原和蛋白聚糖的合成<sup>[94]</sup>。当用压力刺激大鼠髓核细胞时,大鼠髓核细胞的氧自由基产生会增多,导致出现自噬性细胞死亡<sup>[95]</sup>,说明压力所导致大鼠NP细

胞的损伤中存在自噬, 并且该自噬会导致细胞死亡, 这为压力导致的椎间盘退变的研究提供了新方向。

在某些条件下, 自噬的过度发生将导致自噬体的形成数量超过溶酶体的降解能力, 在一些调节因子的作用下, 自噬也将作为一种死亡机制诱导细胞发生II型程序性死亡, 与凋亡一起促进细胞死亡, 或通过进一步触发细胞凋亡程序而引起细胞死亡<sup>[96-97]</sup>。

#### 4 结论

在大部分组织中发生的自噬都处于基础水平, 自噬降解的细胞内成分可以提供营养或原料供给细胞循环再利用<sup>[98]</sup>。应激状态下, 自噬水平明显升高, 作为一种适应性反应被激发来维持整体的平衡。在正常椎间盘细胞中基础水平的自噬对维持细胞稳态是必不可少的, 而在退变椎间盘细胞中, 它的表达量却存在不确定性<sup>[46-48,64-66]</sup>。因此, 也导致了自噬在椎间盘退变中的作用存在极大的争议, 所以, 未来揭示自噬在椎间盘退变中确切作用的研究是非常必要的。

目前对椎间盘退行性疾病的药物、物理与手术疗法均有很大进展, 但是仍然无法避免椎间盘退行性变发生, 仍无法从根本上解决腰背部疼痛患者痛苦。尽管目前对自噬在椎间盘退变中的研究尚处于起步阶段, 还有许多的问题等待解决, 但相信随着对自噬在椎间盘退行性变机制研究的深入, 将自噬引入椎间盘退变的治疗将成为可能。

总而言之, 越来越多的证据显示, 自噬在椎间盘退变中具有重要作用, 椎间盘细胞中的自噬将会成为一个新的研究热点。更加详细地了解自噬的过程以及它在椎间盘退变中的作用, 也许有助于研究人员找到推迟或者逆转椎间盘退变的方法。

#### 参考文献 (References)

- 1 Wang WJ, Yu XH, Wang C, Yang W, He WS, Zhang SJ, *et al*. MMPs and ADAMTSs in intervertebral disc degeneration. *Clin Chim Acta* 2015; 448: 238-46.
- 2 Blanquer SB, Grijpma DW, Poot AA. Delivery systems for the treatment of degenerated intervertebral discs. *Adv Drug Deliv Rev* 2015; 84: 172-87.
- 3 Boubriak OA, Watson N, Sivan SS, Stubbens N, Urban JP. Factors regulating viable cell density in the intervertebral disc: Blood supply in relation to disc height. *J Anat* 2013; 222(3): 341-8.
- 4 García-Cosamalón J, Fernández-Fernández J, González-Martínez E, Ibáñez-Plágaro J, Robla Costales J, Martínez-Madrigal M, *et al*. Innervation of the intervertebral disc. *Neurocirugia (Astur)* 2013; 24(3): 121-9.
- 5 Schroeder K, Richards S. Non-specific low back pain. *Lancet* 2012; 379(9814): 482-91.
- 6 Katz JN. Lumbar disc disorders and low-back pain: Socio-economic factors and consequences. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88 Suppl 2: 21-4.
- 7 Adams MA, Roughley PJ. What is intervertebral disc degeneration, and what causes it? *Spine* 2006; 31(18): 2151-61.
- 8 Wang SZ, Rui YF, Tan Q. Enhancing intervertebral disc repair and regeneration through biology: Platelet-rich plasma as an alternative strategy. *Arthritis Res Ther* 2013; 15(5): 106-11.
- 9 Woods BI, Vo N, Sowa G, Kang JD. Gene therapy for intervertebral disk degeneration. *Orthop Clin North Am* 2011; 42(4): 563-74.
- 10 Zhang Y, Chee A, Thonar EJ, An HS. Intervertebral disk repair by protein, gene, or cell injection: A framework for rehabilitation-focused biologics in the spine. *PM R* 2011; 3(1): 88-94.
- 11 O'Connell GD, Leach JK, Klineberg EO. Tissue engineering a biological repair strategy for lumbar disc herniation. *Biores Open Access* 2015; 4(1): 431-45.
- 12 Werner BC, Li X, Shen FH. Stem cells in preclinical spine studies. *Spine J* 2014; 14(3): 542-51.
- 13 Vasiliadis ES, Pneumaticos SG, Evangelopoulos DS, Papavassiliou AG. Biologic treatment of mild and moderate intervertebral disc degeneration. *Mol Med* 2014; 20(3): 400-9.
- 14 Wang C, Wang WJ, Yan YG, Xiang YX, Zhang J, Tang ZH, *et al*. MicroRNAs: New players in intervertebral disc degeneration. *Clin Chim Acta* 2015; 450: 333-41.
- 15 Xu YQ, Zhang ZH, Zheng YF, Feng SQ. Dysregulated miR-133a mediates loss of type II collagen by directly targeting matrix metalloproteinase 9 (MMP9) in human intervertebral disc degeneration. *Spine (Phila Pa 1976)* 2016; 41(12): E717-24.
- 16 Kiriya Y, Nochi H. The function of autophagy in neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci* 2014; 16(11): 26797-812.
- 17 Wang L, Law HK. The role of autophagy in lupus nephritis. *Int J Mol Sci* 2015; 16(10): 25154-67.
- 18 Duarte JH. Osteoarthritis: Autophagy prevents age-related OA. *Nat Rev Rheumatol* 2015; 11(12): 683.
- 19 Li YS, Zhang FJ, Zeng C, Luo W, Xiao WF, Gao SG, *et al*. Autophagy in osteoarthritis. *Joint Bone Spine* 2015; 83(2): 143-8.
- 20 Navone F, Genevini P, Borgese N. Autophagy and neurodegeneration: Insights from a cultured cell model of ALS. *Cell* 2014; 4(3): 354-86.
- 21 Xu G, Mei Q, Zhou D, Wu J, Han L. Vitamin D receptor gene and aggrecan gene polymorphisms and the risk of intervertebral disc degeneration—a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7(11): e50243.
- 22 Kadow T, Sowa G, Vo N, Kang JD. Molecular basis of intervertebral disc degeneration and herniations: What are the important translational questions? *Clin Orthop Relat Res* 2014; 473(6): 1903-12.
- 23 Kepler CK, Ponnappan RK, Tannoury CA, Risbud MV, Anderson DG. The molecular basis of intervertebral disc degeneration. *Spine J* 2013; 13(3): 318-30.
- 24 Battié MC, Videman T, Carragee EJ. Re: Virtanen IM, Karppinen J, Taimela S, *et al*. Occupational and genetic risk factors

- associated with intervertebral disc disease. *Spine* 2007; 32(10): 1129-34.
- 25 Depalma MJ, Ketchum JM, Saullo TR. Multivariable analyses of the relationships between age, gender, and body mass index and the source of chronic low back pain. *Pain Med* 2012; 13(4): 498-506.
- 26 Elfering A, Semmer N, Birkhofer D, Elfering A, Semmer N, Birkhofer D. Risk factors for lumbar disc degeneration: A 5-year prospective MRI study in asymptomatic individuals. *Spine* 2002; 27(27): 125-34.
- 27 Liu S, Nan W, Liu J, Liu H, Su X, Liu Z, *et al.* Association between ADAMTS-4, gene polymorphism and lumbar disc degeneration in Chinese Han population. *J Orthop Res* 2015; 34(5): 860-864.
- 28 Wu N, Chen J, Liu H, Zhao L, Liu S, Liu J, *et al.* The involvement of ADAMTS-5 genetic polymorphisms in predisposition and diffusion tensor imaging alterations of lumbar disc degeneration. *J Orthop Res* 2014; 32(5): 686-94.
- 29 Hall J. Association of the polymorphism of MMP2 with the risk and severity of lumbar disc degeneration in the Chinese Han population. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17(13): 1830-4.
- 30 Zawilla NH, Darweesh H, Mansour N, Helal S, Taha FM, Awadallah M, *et al.* Matrix metalloproteinase-3, vitamin D receptor gene polymorphisms, and occupational risk factors in lumbar disc degeneration. *J Occup Rehabil* 2014; 24(2): 1-12.
- 31 Videman T, Saarela J, Kaprio J, Näkki A, Levälähti E, Gill K, *et al.* Associations of 25 structural, degradative, and inflammatory candidate genes with lumbar disc desiccation, bulging, and height narrowing. *Arthritis Rheum* 2009; 60(2): 470-81.
- 32 Kalichman L, Hunter DJ. The genetics of intervertebral disc degeneration. Familial predisposition and heritability estimation. *Joint Bone Spine* 2008; 75(4): 383-7.
- 33 Anding AL, Baehrecke EH. Autophagy in cell life and cell death. *Curr Top Dev Biol* 2015; 114: 67-91.
- 34 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.
- 35 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.
- 36 Scott RC, Juhász G, Neufeld TP. Direct induction of autophagy by Atg1 inhibits cell growth and induces apoptotic cell death. *Curr Biol* 2007; 17(1): 1-11.
- 37 Kamada Y, Funakoshi T, Shintani T, Nagano K, Ohsumi M, Ohsumi Y. Tor-mediated induction of autophagy via an Apg1 protein kinase complex. *J Cell Biol* 2000; 150(6): 1507-13.
- 38 Itakura E, Mizushima N. Characterization of autophagosome formation site by a hierarchical analysis of mammalian Atg proteins. *Autophagy* 2010; 6(6): 764-76.
- 39 Papinski D, Schuschnig M, Reiter W, Wilhelm L, Barnes CA, Maiolica A, *et al.* Early steps in autophagy depend on direct phosphorylation of Atg9 by the Atg1 kinase. *Mol Cell* 2014; 53(3): 471-83.
- 40 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.
- 41 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(Pt 9): 1679-88.
- 42 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.
- 43 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.
- 44 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.
- 45 Kong CG, Park JB, Man SK, Park EY. High Glucose accelerates autophagy in adult rat intervertebral disc cells. *Asian Spine J* 2014; 8(5): 543-8.
- 46 Ye W, Zhu W, Xu K, Liang A, Peng Y, Huang D, *et al.* Increased macroautophagy in the pathological process of intervertebral disc degeneration in rats. *Connect Tissue Res* 2013; 54(1): 22-8.
- 47 Gruber HE, Hoelscher GL, Ingram JA, Bethea S, Hanley EN Jr. Autophagy in the degenerating human intervertebral disc: *In vivo* molecular and morphological evidence, and induction of autophagy in cultured annulus cells exposed to proinflammatory cytokines-implications for disc degeneration. *Spine* 2015; 40(11): 773-82.
- 48 Ye W, Xu K, Huang D, Liang A, Peng Y, Zhu W, *et al.* Age-related increases of macroautophagy and chaperone-mediated autophagy in rat nucleus pulposus. *Connect Tissue Res* 2011; 52(6): 472-8.
- 49 Le MC, Pockert A, Buttle DJ, Freemont AJ, Hoyland JA. Matrix synthesis and degradation in human intervertebral disc degeneration. *Biochem Soc Trans* 2007; 35(Pt 4): 652-5.
- 50 Yang W, Yu XH, Wang C. Interleukin-1 beta in intervertebral disk degeneration. *Clinica Chimica Acta* 2015; 450: 262-72.
- 51 Johnson ZI, Schoepflin ZR, Choi H, Shapiro IM, Risbud MV. Disc in flames: Roles of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in intervertebral disc degeneration. *Eur Cell Mater* 2015; 30: 104-17.
- 52 Kang XU, Chen W, Wang X, Peng Y, Liang A, Huang D, *et al.* Autophagy attenuates the catabolic effect during inflammatory conditions in nucleus pulposus cells, as sustained by NF- $\kappa$ B and JNK inhibition. *Int J Mol Med* 2015; 36(3): 661-8.
- 53 Wang XH, Zhu L, Hong X, Wang YT, Wang F, Bao JP, *et al.* Resveratrol attenuated TNF- $\alpha$ -induced MMP-3 expression in human nucleus pulposus cells by activating autophagy via AMPK/SIRT1 signaling pathway. *Exp Biol Med (Maywood)* 2016; 241(8): 848-53.
- 54 Huang G, Zou J, Shi J, Zhang DY, Peng HF, Zhang Q, *et al.* Electroacupuncture stimulates remodeling of extracellular matrix by inhibiting apoptosis in a rabbit model of disc degeneration. *Evid Based Complement Alternat Med* 2015; 2015: 386012.
- 55 Yang SD, Yang DL, Sun YP, Wang BL, Ma L, Feng SQ, *et al.* 17 $\beta$ -estradiol protects against apoptosis induced by interleukin-1 $\beta$  in rat nucleus pulposus cells by down-regulating MMP-3 and

- MMP-13. *Apoptosis* 2015; 20(3): 348-57.
- 56 Wang Z, Wang G, Zhu X, Geng D, Yang H. Interleukin-2 is upregulated in patients with a prolapsed lumbar intervertebral disc and modulates cell proliferation, apoptosis and extracellular matrix metabolism of human nucleus pulposus cells. *Exp Ther Med* 2015; 10(6): 2437-43.
- 57 Chen SQ, Lin JP, Zheng QK, Chen SJ, Li M, Lin XZ, *et al.* Protective effects of paeoniflorin against FasL-induced apoptosis of intervertebral disc annulus fibrosus cells via Fas-FasL signalling pathway. *Exp Ther Med* 2015; 10(6): 2351-5.
- 58 Dang S, Yu ZM, Zhang CY, Zheng J, Li KL, Wu Y, *et al.* Autophagy promotes apoptosis of mesenchymal stem cells under inflammatory microenvironment. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6(1): 1-9.
- 59 Fernández A, Ordóñez R, Reiter RJ, González-Gallego J, Mauriz JL. Melatonin and endoplasmic reticulum stress: Relation to autophagy and apoptosis. *J Pineal Res* 2015; 59(3): 292-307.
- 60 Jiang W, Zhang X, Hao J, Shen J, Fang J, Dong W, *et al.* SIRT1 protects against apoptosis by promoting autophagy in degenerative human disc nucleus pulposus cells. *Sci Rep* 2014; 4: 7456.
- 61 Miyazaki S, Kakutani K, Yurube T, Maeno K, Takada T, Zhang Z, *et al.* Recombinant human SIRT1 protects against nutrient deprivation-induced mitochondrial apoptosis through autophagy induction in human intervertebral disc nucleus pulposus cells. *Arthritis Res Ther* 2015; 17(1): 327-61.
- 62 Xia X, Guo J, Lu F, Jiang J. SIRT1 plays a protective role in intervertebral disc degeneration in a puncture-induced rodent model. *Spine* 2015; 40(9): 515-24.
- 63 Shen C, Yan J, Jiang LS, He WS, Zhang SJ, Yan YG, *et al.* Autophagy in rat annulus fibrosus cells: Evidence and possible implications. *Arthritis Res Ther* 2010; 13(4): R132.
- 64 Jiang L, Yuan F, Yin X, Dong J. Responses and adaptations of intervertebral disc cells to microenvironmental stress: A possible central role of autophagy in the adaptive mechanism. *Connect Tissue Res* 2014; 55(5/6): 1-30.
- 65 Jiang L B, Cao L, Yin XF, Yasen M, Yishake M, Dong J, *et al.* Activation of autophagy via Ca-dependent AMPK/mTOR pathway in rat notochordal cells is a cellular adaptation under hyperosmotic stress. *Cell Cycle* 2015; 14(6): 867-79.
- 66 Paietta RC, Burger EL, Ferguson VL. Mineralization and collagen orientation throughout aging at the vertebral endplate in the human lumbar spine. *J Struct Biol* 2013; 184(2): 310-20.
- 67 Zhao Y, Zhao MM, Cai Y, Zheng MF, Sun WL, Zhang SY, *et al.* Mammalian target of rapamycin signaling inhibition ameliorates vascular calcification via Klotho upregulation. *Kidney Int* 2015; 88(4): 711-21.
- 68 Liu D, Cui W, Liu B, Hu H, Liu J, Xie R, *et al.* Atorvastatin protects vascular smooth muscle cells from TGF- $\beta$ 1-stimulated calcification by inducing autophagy via suppression of the  $\beta$ -catenin pathway. *Cell Physiol Biochem* 2014; 33(1): 129-41.
- 69 Xu HG, Zhang XH, Wang H, Liu P, Wang LT, Zuo CJ, *et al.* Intermittent cyclic mechanical tension-induced calcification and downregulation of ankh gene expression of end plate chondrocytes. *Spine*, 2012; 37(37): 1192-7.
- 70 Xu HG. Autophagy protects endplate chondrocytes from intermittent cyclic mechanical tension induced calcification. *Bone* 2014; 66(9): 232-9.
- 71 马凯歌. 自噬参与压力诱导的髓核细胞损伤及其机制研究. 华中科技大学博士论文(Ma Kaige. Study on the mechanism of stress induced cell injury induced by autophagy in nucleus pulposus cells. Doctoral dissertation, Huazhong University of Science and Technology), 2014.
- 72 Wang C, Gonzales S, Levene H, Gu W, Huang CY. Energy metabolism of intervertebral disc under mechanical loading. *J Orthop Res* 2013; 31(11): 1733-8.
- 74 Ohshima H, Urban JP. The effect of lactate and pH on proteoglycan and protein synthesis rates in the intervertebral disc. *Spine* 1992; 17(9): 1079-82.
- 75 Holm S, Nachemson A. Nutrition of the intervertebral disc: Acute effects of cigarette smoking. An experimental animal study. *Ups J Med Sci* 1988; 93(1): 91-9.
- 76 Wu W, Zhang X, Hu X, Wang X, Sun L, Zheng X, *et al.* Lactate down-regulates matrix synthesis and promotes apoptosis and autophagy in rat nucleus pulposus cells. *J Orthop Res* 2014; 32(2): 253-61.
- 77 Grunhagen T, Wilde G, Soukane DM, Shirazi-Adl SA, Urban JP. Nutrient supply and intervertebral disc metabolism. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88 Suppl 2(2): 30-5.
- 78 Krupsky M, Kuang PP, Goldstein RH. Regulation of type I collagen mRNA by amino acid deprivation in human lung fibroblasts. *J Biol Chem* 1997; 272(21): 13864-8.
- 79 Karim MR, Kawanago H, Kadowaki M. A quick signal of starvation induced autophagy: Transcription versus post-translational modification of LC3. *Anal Biochem* 2014; 465: 28-34.
- 80 Ye W, Zhu W, Xu K, Liang A, Peng Y, Huang D, *et al.* Increased macroautophagy in the pathological process of intervertebral disc degeneration in rats. *Connect Tissue Res* 2013; 54(1): 22-8.
- 81 Sakellariadis N, Androulis A. Influence of diabetes mellitus on cervical intervertebral disc herniation. *Clin Neurol Neurosurg* 2008; 110(8): 810-2.
- 82 Kong CG, Park JB, Man SK, Park EY. High glucose accelerates autophagy in adult rat intervertebral disc cells. *Joint Bone Spine* 2014; 8(5): 543-8.
- 83 Jiang L, Zhang X, Zheng X, Ru A, Ni X, Wu Y, *et al.* Apoptosis, senescence, and autophagy in rat nucleus pulposus cells: Implications for diabetic intervertebral disc degeneration. *J Orthop Res* 2013; 31(5): 692-702.
- 84 Dang S, Yu ZM, Zhang CY, Zheng J, Li KL, Wu Y, *et al.* Autophagy promotes apoptosis of mesenchymal stem cells under inflammatory microenvironment. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6(1): 1-9.
- 85 Fernández A, Ordóñez R, Reiter R J, González-Gallego J, Mauriz JL. Melatonin and endoplasmic reticulum stress: Relation to autophagy and apoptosis. *J Pineal Res* 2015; 59(3): 292-307.
- 86 Yang H, Cao C, Wu C, Yuan C, Gu Q, Shi Q, *et al.* TGF- $\beta$ 1 suppresses inflammation in cell therapy for intervertebral disc degeneration. *Sci Rep* 2015; 5: 13254.
- 87 Yang H, Gao F, Li X, Wang J, Liu H, Zheng Z. TGF- $\beta$ 1 antagonizes TNF- $\alpha$ , induced up-regulation of matrix metalloproteinase 3 in nucleus pulposus cells: Role of the ERK1/2 pathway. *Connect Tissue Res* 2015; 56(6): 1-16.
- 88 Yang H, Jian W, Liu J, Castillo S, Liu X, Tang T, *et al.*



- Transplanted mesenchymal stem cells with pure fibrinous gelatin-transforming growth factor- $\beta$ 1 decrease rabbit intervertebral disc degeneration. *Spine J* 2010; 10(9): 802-10.
- 89 Ding Y, Kim JK, Kim SI, Na HJ, Jun SY, Lee SJ, *et al.* TGF- $\beta$ 1 protects against mesangial cell apoptosis via induction of autophagy. *J Biol Chem* 2010; 285(48): 37909-19.
- 90 Xu Y, Yang S, Huang J, Ruan S, Zheng Z, Lin J. TGF- $\beta$ 1 induces autophagy and promotes apoptosis in renal tubular epithelial cells. *Int J Mol Med* 2012; 29: 781-90.
- 91 Ni BB, Li B, Yang YH, Chen JW, Chen K, Jiang SD, *et al.* The effect of transforming growth factor  $\beta$ 1 on the crosstalk between autophagy and apoptosis in the annulus fibrosus cells under serum deprivation. *Cytokine* 2014; 70(2): 87-96.
- 92 Chen J W, Ni BB, Li B, Yang YH, Jiang SD, Jiang LS. The responses of autophagy and apoptosis to oxidative stress in nucleus pulposus cells: Implications for disc degeneration. *Cell Physiol Biochem* 2014; 34(4): 1175-89.
- 93 Walter BA, Korecki CL, Purmessur D, Roughley PJ, Michalek AJ, Iatridis JC. Complex loading affects intervertebral disc mechanics and biology. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19(8): 1011-8.
- 94 Le Maitre CL, Freemont AJ, Hoyland JA. Expression of cartilage-derived morphogenetic protein in human intervertebral discs and its effect on matrix synthesis in degenerate human nucleus pulposus cells. *Arthritis Res Ther* 2009; 11(5): R137.
- 95 Ma KG, Shao ZW, Yang SH, Wang J, Wang BC, Xiong LM, *et al.* Autophagy is activated in compression-induced cell degeneration and is mediated by reactive oxygen species in nucleus pulposus cells exposed to compression. *Osteoarthritis Cartilage* 2013; 21(12): 2030-8.
- 96 Scott RC, Juhasz G, Neufeld TP. Direct induction of autophagy by Atg1 inhibits cell growth and induces apoptotic cell death. *Curr Biol* 2007; 17(1): 1-11.
- 97 Lockshin RA, Zakeri Z. Apoptosis, autophagy, and more. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 2405-19.
- 98 Monastyrska I, Klionsky DJ. Autophagy in organelle homeostasis: Peroxisome turnover. *Mol Aspects Med* 2006; 27(5/6): 483-94.