

细胞自噬形成机制及其功能研究进展

郑祖国 张评浒*

(中国药科大学, 江苏省新药筛选重点实验室, 南京 210009)

摘要 自噬是真核细胞维持内环境稳态的一种内在平衡机制。现已发现, 多种自噬相关蛋白(autophagy related protein or Atg protein)参与自噬形成。其中, 自噬相关蛋白1/Unc-51样激酶1(autophagy related 1/Unc-51-like kinase 1, Atg1/ULK1)蛋白酶复合物主要在自噬形成起始阶段发挥作用; 自噬相关蛋白9·自噬相关蛋白2·自噬相关蛋白18(autophagy related 9·autophagy related 2·autophagy 18, Atg9·Atg2·Atg18)复合物主要为自噬形成递送膜结构; 自噬相关蛋白12(autophagy related 12, Atg12)和自噬相关蛋白5/微管相关蛋白1轻链3(autophagy-related 5/microtubule-associated protein 1 light chain 3, Atg5/LC3)结合系统主要参与隔离膜的延伸和自噬体的成熟; 而泡膜蛋白34·自噬相关蛋白6/Beclin1磷脂酰肌醇-3激酶复合物[vacuolar proteins sorting 34-autophagy related 6/Beclin 1 phosphatidylinositol-3 kinase, Vps34-Atg6/Beclin1 PI(3)P]则可与不同物质结合, 在自噬的起始和自噬体成熟过程中发挥重要作用。随着研究的深入, 细胞自噬被认为可特异性识别底物进行降解, 如线粒体自噬、噬脂、异体吞噬等。因此, 自噬与多种疾病的发生发展密切相关, 如神经系统疾病、肿瘤、心血管疾病、感染、代谢性疾病、特发性肺纤维化、肺动脉高压等疾病并参与衰老等生理过程。目前, 一批以自噬为靶点的自噬调节剂正在临床试验阶段。

关键词 自噬; 自噬体; 自噬相关基因; 蛋白质复合物; 自噬调节剂

Advances in the Molecular Mechanism of Autophagy Formation

Zheng Zuguo, Zhang Pinghu*

(Jiangsu Key Lab for New Drug Screening, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract Autophagy is an internal balancing mechanism to maintain homeostasis in eukaryotic cells. More autophagy-related proteins involved in the formation of autophagy have been discovered. For example, Atg1/ULK1 protease complexes mainly playing a critical role in the initial stage of the autophagy formation; Atg9·Atg2·Atg18 complexes mainly for the delivery of membrane structure in the process of autophagy formation; Atg12 and Atg5/LC3 binding system mainly involved in extending membrane and autophagy mature; Vps34-Atg6/Beclin1 PI(3)P enzyme complex playing an important role in the initiation and maturation of autophagy. Recent investigations have identified selectively in the recognition of autophagy substrates, such as mitophagy, lipophagy, xenophagy, etc. Therefore, autophagy is closely related to the occurrence and development of many diseases. Such as nervous system diseases, cancer, cardiovascular disease, infection, metabolic disease, idiopathic pulmonary, and pulmonary hypertension, and participates in the process of aging. At present, a number of autophagy regulators, which targeting

收稿日期: 2016-07-30 接受日期: 2016-10-08

新世纪优秀人才计划项目(批准号: NCET-12-0975)、教育部回国留学人才启动项目和江苏省新药筛选重点实验室自主探索项目(批准号: JKLD2015ZZ-8)资助的课题

*通讯作者。Tel: 025-83271043, E-mail: zhangpinghu@163.com

Received: July 30, 2016 Accepted: October 8, 2016

This work was supported by the Program For New Century Excellent Talents in University (Grant No. NCET-12-0975), Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, State Education Ministry, and Project Program of Jiangsu Key Laboratory of Drug Screening (Grant No. JKLD2015ZZ-8)

*Corresponding author. Tel: +86-25-83271043, E-mail: zhangpinghu@163.com

网络出版时间: 2016-12-20 16:09:13 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161220.1609.012.html>

autophagy are in clinical trials.

Keywords autophagy; autophagosome; autophagy-related gene; protein complex; autophagy regulator

1 自噬的发展历史

在1963年的溶酶体国际会议上,比利时科学家Christian de Duve首次提出了“自噬”的概念。当时认为,自噬是指需要降解的蛋白质和细胞器等胞质成分被包裹,并运送至溶酶体降解的过程。而正是基于对自噬领域的卓越贡献,Christian de Duve获得了1974年诺贝尔生理学或医学奖。

此后,自噬领域并没有得到快速发展。直到1997年,日本科学家Yoshinori Ohsumi等^[1]首次克隆出酵母自噬相关基因(autophagy-related gene),并命名为*Atg1*(autophagy-related gene 1)。随后,美国科学家Beth Levine等^[2]于1998年首次克隆出哺乳动物自噬相关基因,并命名为*Beclin1*。后来,人们在酵母中发现了与*Beclin1*类似生理功能的自噬相关基因*Atg6*。自此,自噬领域的研究进入一个快速发展时期。随着研究的深入,科学家们发现,自噬的生理功能主要是维持细胞内稳态及维持细胞存活。这也是真核细胞维持稳态、实现更新的一种重要进化机制。自噬分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导自噬(chaperone-mediated autophagy),而我们通常所讲的自噬是巨自噬,这种自噬也是目前自噬领域研究最为深入的。时至今日,自噬已经成为继凋亡之后生物学领域中最热门的研究之一,尤其是从本世纪初开始,自噬领域的研究进入黄金发展时期,并且,以“Autophagy”(自噬)命名的专业杂志,在成立较短的时间内便在生物医药科学领域获得较高的影响力。

2 自噬的形成过程

在生理条件下,细胞只存在着少量以维持细胞稳态的自噬作用。当受到细胞内外刺激因素诱导时,经细胞信号通路的转导,诱导细胞形成大量自噬。早在上世纪90年代,Takeshige等^[3]就将缺失蛋白酶A、B和羧肽酶Y的突变型酵母菌*Saccharomyces cerevisiae*从营养培养基中转移到缺少多种营养物质的合成培养基中,在电子显微镜下可以观察到细胞形态学的变化,当转移到缺少多种营养物质的合成培养基中后,发现大量的空泡存在,并且证实这种空泡就是自噬体。除了上述营养缺乏可以诱导细胞发

生自噬外,低氧^[4]、一些小分子化合物^[5]和激素等都可以作为自噬的诱导因素。

Mizushima^[6]将自噬的过程分为隔离、降解、氨基酸/多肽形成等几个步骤。而Tanida^[7]将自噬过程分为起始、延伸、成熟、自噬体与溶酶体融合和降解等几个步。但是,二者阐述自噬形成过程的本质是一致的,即当细胞受到上述细胞内外刺激因素诱导后,通过信号通路转导,细胞中的一种前自噬结构PAS(pre-autophagosomal structure),逐渐形成具有双层膜结构的物质,称为隔离膜(isolation membrane或phagophore)。这种结构不断延伸,将细胞质一部分及细胞器包裹形成一种封闭的双层膜结构,称为自噬体(autophagosome)。自噬体将通过两种方式与溶酶体融合。一种是自噬体的外层膜先与内体(endosome)融合,然后再与溶酶体融合形成自噬溶酶体。另一种方式是直接与溶酶体融合形成自噬溶酶体,从形成双层膜结构到与溶酶体融合形成自噬溶酶体的整个过程称为自体吞噬泡(autophagic vacuole)。当形成自噬溶酶体后,溶酶体中存在许多酶类物质,这些酶可将自噬体包裹的蛋白质及细胞器等内容物降解成氨基酸或多肽等物质供细胞进行重复利用(图1)。

3 自噬形成的分子机制

以上详细介绍了自噬的形成过程,在各种生理或病理因素诱导下,经信号通路转导自噬信号并诱发自噬。那么,在刺激因素诱导下,有哪些信号通路、蛋白质参与了自噬过程,它们如何发挥作用的呢?

1997年,日本科学家首次克隆了酵母自噬相关基因——*Atg1*。此后,有关自噬的研究进入到一个快速发展时期,到目前为止,科学家们已经发现自噬相关蛋白质有30多种,其中有10多种参与自噬体的形成,称为AP-Atg,例如*Atg1-10*、*Atg12-14*、*Atg16-18*、*Atg29*和*Atg31*等^[6]。

自噬相关蛋白质之间可以相互结合形成各种复合物,并将这些复合物称之为“核心”Atg蛋白质复合物,这些复合物对自噬的形成起着至关重要的作用。到目前为止,自噬领域的科学家们已经发现了5种“核心”Atg蛋白质复合物,分别是*Atg1/ULK1*

蛋白酶复合物、Atg9·Atg2-Atg18复合物、Vps34-Atg6/Beclin1 PI(3)P酶复合物、Atg12结合系统和Atg/LC3结合系统。而这些“核心”Atg蛋白质复合物在自噬形成过程中的不同阶段发挥不同的作用,如Atg1/ULK1蛋白酶复合物主要在自噬形成过程的起始阶段发挥作用;Atg9·Atg2-Atg18复合物主要为自噬形成递送膜结构;Atg12和Atg/LC3结合系统主要参与隔离膜的延伸和自噬体的成熟;而Vps34-Atg6/Beclin1 PI(3)P酶复合物的作用则较为复杂,与不同物质结合将发挥不同的作用,有时甚至发挥相反的作用,其主要是在自噬的起始阶段和自噬体成熟过程起作用^[8]。

3.1 Atg1/ULK1蛋白酶复合物

在酵母菌中,Atg1蛋白酶复合物主要是由Atg1和Atg13组成,并能与其他自噬相关蛋白质结合发挥作用,如自噬相关蛋白质Atg17等^[9]。在哺乳动物中,ULK1蛋白酶复合物主要也是由ULK1、Atg13组成^[10],但还与FIP200(200 kDa focal adhesion kinase family-interacting protein)、Atg101结合以发挥作用^[7]。在此,我们着重对哺乳动物细胞中ULK1蛋白酶复

合物进行介绍,以下介绍的“核心”Atg蛋白质复合物也都以哺乳动物为主。Atg13可以帮助Atg14募集前自噬体结构PAS。FIP200也就是分子量为200黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)家族蛋白质,它参与调控多种细胞功能,如细胞大小、增殖及迁移等。FIP200也对ULK1的稳定和磷酸化起着重要作用^[11]。在哺乳动物ULK1蛋白酶复合物中,除已知的ULK1、Atg13、FIP200外,Hosokawa等^[12]在2009年发现了一种新蛋白质——Atg101,可与Atg13直接结合,对其稳定性起到重要作用,而且在酿酒酵母中没有发现Atg101类似物。Atg1/ULK1蛋白酶复合物在mTOR(mammalian target of rapamycin)信号通路的下游,mTOR信号通路调控Atg1/ULK1蛋白酶复合物的磷酸化状态从而调节复合物的活性(图2)。例如,在营养丰富的情况下,mTOR信号通路被激活,激活的mTOR信号通路作用于下游,使ULK1蛋白酶复合物中的ULK1和Atg13磷酸化,从而使ULK1蛋白酶复合物失活。当细胞处于饥饿条件下,mTOR信号通路受到抑制,此时复合物中的ULK1和Atg13去磷酸化,去磷酸化的ULK1被激活恢复酶活性,进而磷

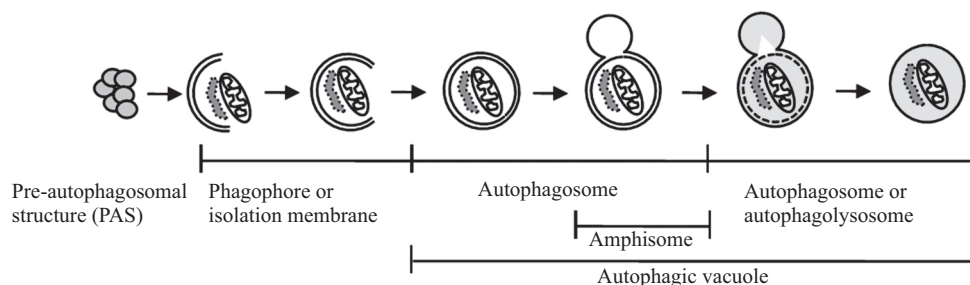


图1 自噬形成的基本过程

Fig.1 The basic progress of autophagy formation

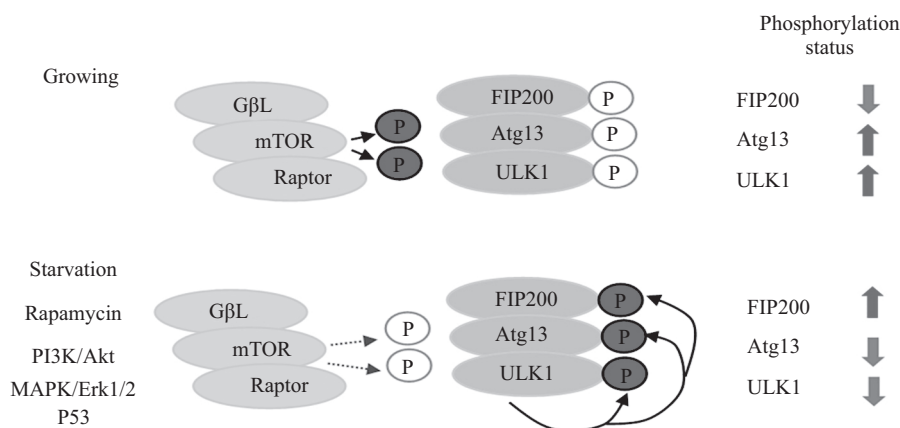


图2 mTOR信号与ULK1酶复合物作用

Fig.2 The role of mTOR signal pathway and ULK1 enzyme complex

酸化Atg13、FIP200及ULK1自磷酸化。一般情况下,营养丰富时,Atg13、ULK1磷酸化增多;而在饥饿时,FIP200磷酸化增多^[10,13]。除了营养条件可以影响mTOR信号通路外,雷帕霉素、PI3K/Akt信号、MAPK/Erk1/2信号和P53等都可以影响mTOR信号通路。

3.2 Atg9·Atg2-Atg18复合物

此复合物是由Atg9/mAtg9·Atg2和Atg18/VMP1组成,Atg9与VMP1均是跨膜蛋白质。在酵母菌中,Atg9是唯一一个完整的Atg膜蛋白,其在哺乳动物中的类似物是mAtg9/Atg9L1。Atg9·Atg2-Atg18复合物在自噬形成过程中发挥重要作用,主要功能是为自噬形成递送膜结构^[8]。

3.3 Atg12和Atg8/LC3结合系统

将这两个系统放在一起阐述的原因是这两个结合系统存在着紧密联系(图3)。Atg12和Atg8结合系统都是泛素样蛋白质结合系统。在经典系统中,泛素作为前体被合成,然后被特殊的蛋白酶体(proteasome)剪切暴露C-端的甘氨酸残基。进而被E1酶活化,活化的泛素被转移到E2酶上并形成复合物。一种E3连接酶识别目标蛋白并将泛素从E2酶转移到具有赖氨酸残基的靶蛋白上。与泛素系统相似,Atg12的C-端也有甘氨酸残基,E1样酶为Atg7,E2样酶为Atg10,但到目前为止还没有发现E3样酶。Atg12的C-端186甘氨酸与Atg7的507半胱氨酸结合激活Atg12,然后Atg12被转移到Atg10,最终与Atg5的第149位亮氨酸结合并形成复合物。Atg12-Atg5复合物又进一步与Atg16结合形成Atg12-Atg5-Atg16复合物^[15]。与Atg16结合后将促进暴露位于Atg5上的

膜结合位点,从而有助于复合物与膜结合^[16]。有研究证明,Atg12-Atg5-Atg16复合物具有E3样酶生物学活性,主要通过激活Atg3酶活性,促进Atg8从Atg3转移到底物磷脂酰乙醇胺(PE)上。所以,Atg12-Atg5-Atg16复合物可能是作为Atg8的E3样酶^[17]。

同样,Atg8/LC3连接系统也是一种泛素样结合系统,并且Atg8的结构也与泛素相似。同时,Atg10为Atg8/LC3连接系统的E1样酶,Atg3为系统的E2样酶。还有报道称,Atg12-Atg5-Atg16为Atg8/LC3连接系统的E3样酶^[16]。早期合成的Atg8是无活性的,当其被一种蛋白酶Atg4剪切而在C-端暴露出甘氨酸后,才形成成熟的Atg8,此时,Atg8游离分布于细胞质中,称之为Atg8/LC3-I。成熟的Atg8被E1样酶Atg10、E2样酶Atg3以及E3样酶Atg12-Atg5-Atg16连接系统所介导,最终,Atg8/LC3的C-端甘氨酸与PE的特殊氨基酸位点结合形成Atg8/LC3-PE复合物,并称为Atg8/LC3-II。Atg8/LC3-II可与自噬体膜结合,并分布在双层膜结构上^[18]。最终,位于自噬体膜外的LC3可以被Atg4剪切下来,形成Atg8-I游离于细胞质中而被循环利用。内膜上的LC3则会在自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体后,被溶酶体内的蛋白酶水解^[7]。正是由于Atg8/LC3具有两种存在形式,并且与自噬体密切相关,所以,Atg8/LC3成为检测自噬形成的最重要的标志物之一。通常可以通过免疫荧光观察LC3的分布以及通过Western blot检测蛋白质LC3I/LC3II的比值来判定是否发生自噬^[19]。Atg8/LC3连接系统对自噬体的成熟阶段起着非常重要的作用。除此之外,近年有报道称,Atg8/LC3连接系统与自噬的选择性降解作用联系密切。以前认为,介

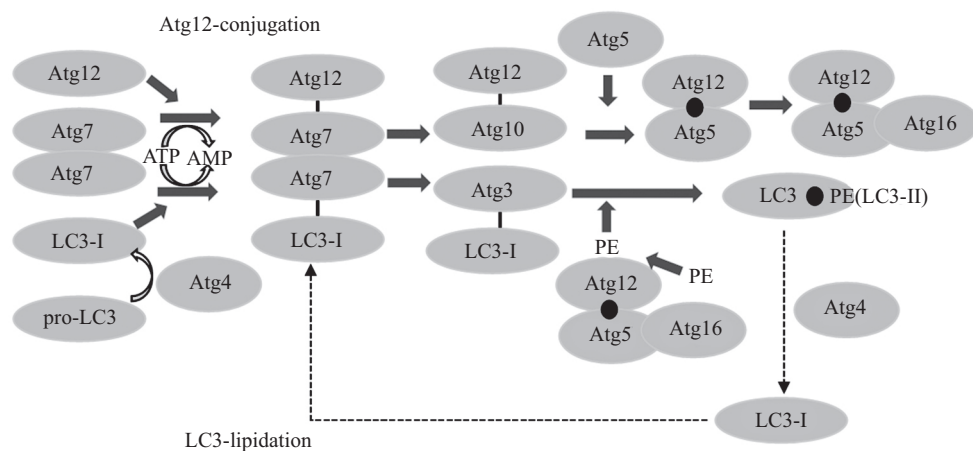


图3 Atg12和Atg8/LC3结合系统
Fig.3 Atg12 and Atg8/LC3 binding systems

导蛋白质降解的途径分为两种: 一种是蛋白酶体降解; 另一种则是自噬降解。蛋白酶体降解是一种“精细”的蛋白质降解方式, 其可以选择性地降解细胞内某一特定蛋白质; 而自噬则被认为是“粗犷”的蛋白质降解方式, 它不能区分所要降解的蛋白质, 只要自噬诱导因素诱导发生自噬, 自噬体便会无选择地包裹细胞内蛋白质或细胞器等进行降解。但这种观点近年来受到质疑, 原因是越来越多的报道证明, 自噬具有选择降解的能力。例如, 选择性降解蛋白质、内质网、线粒体、细菌及病毒等。而Atg8连接系统参与了这种选择性自噬。这种选择性自噬除了Atg8外, 还依赖于一类具有泛素结合结构域的自噬受体, 这些受体包括P62/SQSTM1、Nbr1和ALFY, 它们可以介导自噬底物与Atg8/LC3-II结合^[20]。

3.4 Atg6/Beclin1-Vps34复合物

Atg6/Beclin1-Vps34-III型PI3K酶复合物的亚单位组成随其功能的改变而改变^[21-23]。Atg6/Beclin1-Vps34复合物是III型PI3K酶的中心复合物。在酵母菌中, Atg14-Vps34-Vps15-Atg16复合物在自噬过程中必不可少, 而Vps38-Vps34-Vps15-Atg6复合物是空泡蛋白分类所必需的^[21]。在哺乳动物中, III型-PI3K复合物至少有三种类型与自噬相关^[24-25]。Atg14-Vps34-Vps15-Beclin1复合物是自噬体形成所必需的, UVRAG/Vps38-Vps34-Vps15-Beclin1复合物可促进自噬体成熟以及内吞作用^[24-25]。相反, Rubicon-UVRAG/Vps38-Vps34-Vps15-Beclin1复合物抑制自噬体的成熟以及细胞内吞作用^[26]。一种具有WD40结构域(可激活Beclin1调控自噬)的Ambral蛋白质可调控自噬并且对胚胎起到至关重要的作用^[27]。在感觉神经细胞中, 非依赖于Vps34的自噬体形成和自噬作为一种非典型自噬通路被证明。

4 自噬的功能

在应激条件下, 自噬作为一种存活机制是通过再生代谢前体和清除亚细胞内碎片从而维持细胞完整性的。这一过程不仅有助于维持细胞与组织内部的稳态平衡, 而且对调控高等生物的发育与相关疾病的进程具有重要作用。一直以来, 人们认为, 与蛋白酶体降解相比, 自噬是一种非特异性降解过程。但近年来, 研究者发现, 自噬具有识别自噬底物的选择性^[28], 如特异性识别线粒体的自噬, 还有特异性识别内质网、过氧化物酶体等自噬^[29-30]; 而且, 自噬还

参与清除在应激、衰老以及疾病过程中由于干扰蛋白质结构或者折叠而引起的多聚泛素化蛋白质聚合物的降解, 这种自噬被称之为aggrephagy^[31]。自噬也被证明与脂质代谢的调控有关, 这种自噬被称为噬脂(lipophagy)^[32-33]。自噬最初被认为可能阻止细胞死亡而发挥保护性机制。但是, 自噬与凋亡之间调控原件的相互作用证明这两个过程交叉的复杂性, 例如BCL-2与Beclin1的相互作用、LC3B与Fas的相互作用等^[34]。虽然, 过度自噬与自噬抑制都没有被证明能直接引起细胞死亡, 但是, 在一些模型中, 两者也许都有可能与凋亡有关^[35]。当发生感染时, 自噬通过降解细胞内细菌、病毒等外源物质而增加免疫反应, 这种自噬被称为异体吞噬^[36]。自噬还有助于抑制炎症, 包括下调干扰素对病毒感染的反应和促炎因子对入侵病原体的反应, 以及通过对线粒体功能性保护而抑制炎性体(inflammasome)依赖的促炎因子(白介素-1 β 和白介素-18)成熟与分泌^[37]。自噬在适应性免疫反应中发挥重要作用, 如抗原抑制以及淋巴细胞发育^[38]。对自噬特异性识别的深入研究, 使得我们对自噬认识越来越清楚。正是由于其参与诸多生理病理发展进程, 自噬也被认为与多种疾病密切相关, 如亨廷顿病、帕金森病等神经系统疾病^[39]、肿瘤^[40]、心血管疾病^[42]、感染^[43]、代谢性疾病^[32]以及特发性肺纤维化、肺动脉高压^[44]等疾病, 并参与衰老等生理过程。

5 自噬调节剂

对自噬是如何促进发病机理的理解并不完全, 缺乏特异性影响自噬的化合物是目前对靶向自噬治疗疾病的限制性因素。与细胞分裂、细胞分化和细胞死亡相似, 自噬可干扰多种疾病发生发展。因此, 过多或过少的自噬可能促进病理进程。目前, 研究者也致力于鉴定特异性自噬诱导剂或者抑制剂, 并且用于治疗作用。在啮齿类动物模型中, 设计用于诱导或抑制自噬的基因治疗方法已经对多种疾病模型显示出有效的治疗作用, 包括衰老、肥胖、肿瘤、神经退行性疾病和慢性肺炎等。而目前, 一些跨国制药企业和学术机构(包括本课题组)也致力于寻找诱导或者抑制自噬的小分子化合物。自噬的调控可以通过调控促自噬酶[如AMPK(adenosine monophosphate-activated protein kinase)和sirtuin 1]或者调节负性调控自噬蛋白(如mTORC1、去泛素

表1 自噬调节性治疗的临床试验(根据参考文献[45]修改)

Table 1 Ongoing clinical trials exploring the therapeutic modulation of autophagy (modified from reference [45])

适应症 Setting	主要应用 Description	临床前评价效果 Primary endpoint	临床阶段 Phase and stage	临床试验批件号* ClinicalTrials.gov identifier*
Infectious conditions	Chloroquine in resistant HCV infection	Loss of HCV RNA	Phase IV; recruiting	NCT02058173
Neoplastic diseases	Chloroquine in advanced small cell lung cancer	Safety	Phase I; recruiting	NCT00969306
	Chloroquine plus velcade and cyclophosphamide in multiple myeloma	Response rate	Phase II; active, not recruiting	NCT01438177
	Chloroquine in ductal in situ carcinoma prior in surgery	Response rate	Phase I/II; recruiting	NCT01023477
	HCQ plus AKT1 inhibitor MK2206 in advanced solid tumors	Safety	Phase I; recruiting	NCT01480154
	HCQ plus sunitinib in advanced solid tumors	Safety	Phase I; active, not recruiting	NCT00813423
	HCQ plus sirolimus or vorinostat in advanced Cancers	Safety	Phase I; recruiting	NCT01266057
	HCQ plus sorafenib in solid tumors	Safety	Phase I; recruiting	NCT01634893
	HCQ plus FOLFOX and bevacizumab in colorectal cancer	Response rate	Phase I/II; recruiting	NCT01206530
	HCQ plus capecitabine, oxaliplatin, and bevacizumab in colorectal cancer	Progression-free survival	Phase II; recruiting	NCT01006369
	HCQ treatment of breast cancer	Inhibition of autophagy in tumor Expression of hypoxia markers in tumor	Phase II; recruiting	NCT01292408
	HCQ plus sirolimus in Lymphangioleiomyomatosis	Safety	Phase I; recruiting	NCT01687179
	HCQ plus gemcitabine/abraxane in pancreatic cancer	Overall survival	Phase I/II; recruiting	NCT01506973
	Preoperative HCQ plus gemcitabine and albumin-bound paclitaxel in pancreatic cancer	Histological response	Phase II; recruiting	NCT01128296, NCT01978184
	HCQ in prostate cancer patients with rising PSA levels after local therapy	Reduced increase in circulating PSA levels	Phase II; active, not recruiting	NCT00726596
	HCQ plus navitoclax and abiraterone in metastatic prostate cancer	Biochemical response at the level of PSA	Phase II; recruiting	NCT01828476
	HCQ before surgery of primary renal cell carcinoma and normal tissue in tumor	Inhibition of autophagy	Phase I; recruiting	NCT01144169
	HCQ plus RAD001 in renal cell carcinoma	Progression-free survival	Phase I/II; recruiting	NCT01510119
	HCQ plus carboplatin, paclitaxel, and bevacizumab in non-small-cell lung cancer	Response rate	Phase I/II; active, not recruiting	NCT00933803, NCT01649947
	MLN9708 plus vorinostat for autophagy inhibition in advanced solid cancers	Safety	Phase I; recruiting	NCT02042989
	HCQ plus bortezomib in multiple myeloma	Safety	Phase I/II; unknown	NCT00568880
Neurodegenerative conditions	Tamoxifen (as autophagy inducer) in ALS	Functional tests to assess motor neuron function	Phase I/II; recruiting	NCT02166944
	Rilmenidine (as autophagy inducer) in Huntington's disease	Safety	Phase I; authorized	
Metabolic disorders	Prospective comparison of genotype distribution of ATG polymorphisms in obese children and adolescents	Correlation of polymorphisms with the development of non-alcoholic fatty liver disease	Observational recruiting	NCT01988441
	Proteinopathies cysteamine plus epigallocatechin gallate (as autophagy inducers) for treatment of cystic fibrosis in patients with CFTR F508Δ mutation	Improvement of sweat test and clinical manifestations	Phase II; recruiting	

: 参见<http://clinicaltrials.gov/>, 另有情况说明的除外。: unless otherwise indicated, see <http://clinicaltrials.gov/>.

化酶以及乙酰转移酶EP300)。因此, 美国FDA批准了一些诱导自噬的药物, 但是多数具有多效性, 使得其解析出增加自噬在治疗疾病中的贡献值变得困难。但是, 以自噬为药物的作用靶点, 开发治疗相关疾病的新药仍然具有重要的临床意义。令人感到振

奋的是, 一批自噬调节剂目前正在临床试验阶段(表1)^[45-46]。

6 展望

自噬调节剂的药理学发展还处于起步阶段, 一

些新颖且相对特异的诱导剂和抑制剂将很快进入临床前或临床研究。但目前科学家们对自噬是如何促进发病机理的理解并不完全。虽然, 一大批抑制自噬治疗肿瘤的小分子化合物进入临床试验, 但大多都是非特异性的。因此, 只有更加深入地研究自噬形成过程与功能以及自噬如何参与多种病理进程, 才能最终为开发特异性的自噬调节剂提供可能。

参考文献 (References)

- 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.
- Liang XH, Kleeman LK, Jiang HH, Gordon G, Goldman JE, Berry G, *et al.* Protection against fatal Sindbis virus encephalitis by beclin, a novel Bcl-2-interacting protein. *J Virol* 1998; 72(11): 8586-96.
- Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, Noda T, Ohsumi Y. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol* 1992; 119(2): 301-11.
- Mazure NM, Pouyssegur J. Hypoxia-induced autophagy: Cell death or cell survival? *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(22): 177-80.
- Tsvetkov AS, Miller J, Arrasate M, Wong JS, Pleiss MA, Finkbeiner S. A small-molecule scaffold induces autophagy in primary neurons and protects against toxicity in a Huntington disease model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(39): 16982-7.
- Mizushima N. Autophagy: Process and function. *Genes Dev* 2007; 21(22): 2861-73.
- Tanida I. Autophagosome formation and molecular mechanism of autophagy. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14(11): 2201-14.
- Yang Z, Klionsky DJ. Mammalian autophagy: Core molecular machinery and signaling regulation. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(2): 124-31.
- Kabeya Y, Kamada Y, Baba M, Takikawa H, Sasaki M, Ohsumi Y. Atg17 functions in cooperation with Atg1 and Atg13 in yeast autophagy. *Mol Biol Cell* 2005; 16(5): 2544-53.
- 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.
- Hara T, Takamura A, Kishi C, Iemura S, Natsume T, Guan JL, *et al.* FIP200, a ULK-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells. *J Cell Biol* 2008; 181(3): 497-510.
- Hosokawa N, Sasaki T, Iemura S, Natsume T, Hara T, Mizushima N. Atg101, a novel mammalian autophagy protein interacting with Atg13. *Autophagy* 2009; 5(7): 973-9.
- 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.
- Mizushima N. The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(2): 132-9.
- Geng J, Klionsky DJ. The Atg8 and Atg12 ubiquitin-like conjugation systems in macroautophagy. 'Protein modifications: Beyond the usual suspects' review series. *EMBO Rep* 2008; 9(9): 859-64.
- Romanov J, Walczak M, Ibricic I, Schüchner S, Ogris E, Kraft C, *et al.* Mechanism and functions of membrane binding by the Atg5-Atg12/Atg16 complex during autophagosome formation. *EMBO J* 2012; 31(22): 4304-17.
- Hanada T, Noda NN, Satomi Y, Ichimura Y, Fujioka Y, Takao T, *et al.* The Atg12-Atg5 conjugate has a novel E3-like activity for protein lipidation in autophagy. *J Biol Chem* 2007; 282(52): 37298-302.
- Slobodkin MR, Elazar Z. The Atg8 family: Multifunctional ubiquitin-like key regulators of autophagy. *Essays Biochem* 2013; 55: 51-64.
- Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, Abedin MJ, Abeliovich H, Acevedo Arozena A, *et al.* Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. *Autophagy* 2012; 8(4): 445-544.
- Johansen T, Lamark T. Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy* 2011; 7(3): 279-96.
- Kametaka S, Okano T, Ohsumi M, Ohsumi Y. Apg14p and Apg6/Vps30p form a protein complex essential for autophagy in the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 1998; 273(35): 22284-91.
- Kihara A, Noda T, Ishihara N, Ohsumi Y. Two distinct Vps34 phosphatidylinositol 3-kinase complexes function in autophagy and carboxypeptidase Y sorting in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol* 2001; 152(3): 519-30.
- Zhou X, Wang L, Hasegawa H, Amin P, Han BX, Kaneko S, *et al.* Deletion of PIK3C3/Vps34 in sensory neurons causes rapid neurodegeneration by disrupting the endosomal but not the autophagic pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(20): 9424-9.
- Itakura E, Kishi C, Inoue K, Mizushima N, *et al.* Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol Biol Cell* 2008; 19(12): 5360-72.
- 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.
- 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.
- 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.
- Khaminets A, Behl C, Dikic I. Ubiquitin-dependent and independent signals in selective autophagy. *Trends Cell Biol* 2016; 26(1): 6-16.
- Khaminets A, Heinrich T, Mari M, Grumati P, Huebner AK, Akutsu M. Regulation of endoplasmic reticulum turnover by selective autophagy. *Nature* 2015; 522(7556): 354-8.
- Hanna RA, Quinsay MN, Orogo AM, Giang K, Rikka S, Gustafsson ÅB. Microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) interacts with Bnip3 protein to selectively remove endoplasmic reticulum and mitochondria via autophagy. *J Biol Chem* 2012; 287(23): 19094-104.
- López-Montero N, Ramos-Marquès E, Risco C, García-Del Portillo F. Intracellular Salmonella induces aggregophagy of host

- endomembranes in persistent infections. *Autophagy* 2016; 12(10): 1886-901.
- 32 Martinez-Lopez N, Garcia-Macia M, Sahu S, Athonvarangkul D, Liebling E, Merlo P. Autophagy in the CNS and periphery coordinate lipophagy and lipolysis in the brown adipose tissue and liver. *Cell Metab* 2016; 23(1): 113-27.
- 33 Ryter SW, Cloonan SM, Choi AM. Autophagy: A critical regulator of cellular metabolism and homeostasis. *Mol Cells* 2013; 36(1): 7-16.
- 34 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.
- 35 Wu H, Che X, Zheng Q, Wu A, Pan K, Shao A, *et al.* Caspases: A molecular switch node in the crosstalk between autophagy and apoptosis. *Int J Biol Sci* 2014; 10(9): 1072-83.
- 36 Bauckman KA, Owusu-Boaitey N, Mysorekar IU. Selective autophagy: Xenophagy. *Methods* 2015; 75: 120-7.
- 37 Vojo D, Tatsuya S, Shizuo A. Autophagy in infection, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 722-37.
- 38 Zhong Z, Sanchez-Lopez E, Karin M. Autophagy, inflammation, and immunity: A troika governing cancer and its treatment. *Cell* 2016; 166(2): 288-98.
- 39 Cuervo AM, Bergamini E, Brunk UT, Dröge W, Ffrench M, Terman A. Autophagy and aging the importance of maintaining “clean” cells. *Autophagy* 2005; 1(3): 131-40.
- 40 Baek KH, Park J, Shin I. Autophagy-regulating small molecules and their therapeutic applications. *Chem Soc Rev* 2012; 41(8): 3245-63.
- 41 Zhang H, Puleston DJ, Simon AK. Autophagy and immune senescence. *Trends Mol Med* 2016; 22(8): 671-86.
- 42 Ding WX, Ni HM, Gao W, Hou YF, Melan MA, Chen X, *et al.* Differential effects of endoplasmic reticulum stress-induced autophagy on cell survival. *J Biol Chem* 2007; 282(7): 4702-10.
- 43 Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, Noda T, Ohsumi Y, *et al.* Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol* 1992; 119(2): 301-11.
- 44 Ryter SW, Choi AM. Autophagy in lung disease pathogenesis and therapeutics. *Redox Biol* 2015; 4: 215-25.
- 45 Kroemer G. Autophagy: A druggable process that is deregulated in aging and human disease. *J Clin Invest* 2015; 125(1): 1-4.
- 46 Levine B, Packer M, Codogno P. Development of autophagy inducers in clinical medicine. *J Clin Invest* 2015; 125(1): 14-24.