

自噬在哺乳动物卵巢黄体功能维持 及其退化过程中的作用

唐宗浩 张正红 唐业东 王正朝*

(福建师范大学生命科学学院, 福建省发育与神经生物学重点实验室, 福州 350007)

摘要 自噬是一种广泛存在于真核细胞中的分解代谢过程, 在饥饿、缺氧等应激条件下细胞可以通过自噬途径降解自身组分来维持细胞的内稳态以及物质代谢的平衡, 从而使细胞存活。黄体作为哺乳动物卵巢中的暂时性组织结构, 对维持卵巢功能及早期妊娠具有非常重要的作用, 其主要功能之一是合成孕酮。目前的研究表明, 自噬参与了妊娠黄体功能的维持, 并促进黄体退化过程中的细胞凋亡。该文对自噬在哺乳动物卵巢黄体功能维持及其退化过程中的作用进行综述, 旨在为进一步研究哺乳动物卵巢黄体功能的调控机制提供重要的参考资料。

关键词 自噬; 黄体退化; 细胞凋亡; 孕酮

Contribution of Autophagy to the Maintenance of Luteal Functions and the Regression of Corpus Luteum in the Mammalian Ovary

Tang Zonghao, Zhang Zhenghong, Tang Yedong, Wang Zhengchao*

(Provincial Key Laboratory for Developmental Biology and Neurosciences, College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract Autophagy is a catabolic process widely existed in the eukaryocytes. Under starvation or oxidative stress, cells may degrade their components and recycle them via autophagy to maintain intracellular homeostasis and metabolic balances for the survival of cells. Corpus luteum is an ephemeral endocrine gland in the mammalian ovary, playing a pivotal role in the maintenance of luteal functions and early pregnancy. The production of progesterone is one core function of corpus luteum in the ovary. Present researches have demonstrated that autophagy is involved in the maintenance of luteal functions during the pregnancy and boost the apoptosis of luteal cells during the regression. Therefore, the contribution of autophagy to the maintenance of luteal functions and the regression of corpus luteum in the mammalian ovary will be reviewed, in order to provide some important references for further investigating the regulatory mechanism of luteal functions in the mammalian ovary.

Keywords autophagy; luteal regression; cell apoptosis; progesterone

自噬是一种进化保守的真核细胞自我降解机制, 并广泛参与细胞中的多种生理过程。自噬通常分为三种类型, 即巨自噬、微自噬以及分子伴侣介

导的自噬, 通常认为的自噬是指巨自噬, 且相关的研究也更为深入。与泛素降解途径不同的是, 自噬不仅能够降解细胞内的蛋白质大分子, 还能够对细胞

收稿日期: 2017-01-19 接受日期: 2017-03-01

国家自然科学基金(批准号: 31271255)、福建省自然科学基金(批准号: 2016J01145、2017J01626)和福建省教育厅科技项目(批准号: JAT160118、JZ160426)资助的课题

*通讯作者。Tel/Fax: 0591-22868203, E-mail: zcwang@fjnu.edu.cn

Received: January 19, 2017 Accepted: March 1, 2017

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (Grant No.31271255), Fujian Provincial Natural Science Foundation (Grant No.2016J01145, 2017J01626) and Fujian Province Science and Technology Project of the Education Department (Grant No.JAT160118, JZ160426)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-591-22868203, E-mail: zcwang@fjnu.edu.cn

网络出版时间: 2017-04-18 14:17:15

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170418.1417.010.html>

器进行降解。通常在营养匮乏以及缺氧等应激条件下,细胞会通过形成具有双层膜结构的自噬体对细胞内的错误折叠蛋白质以及受损的细胞器进行包裹并将其运送到溶酶体进行降解。这一过程的精妙之处在于它不仅消除了细胞内的有害组分,同时也为细胞应对不利条件提供了能量基础。自噬主要包含以下几个过程,即自噬的诱导、隔离膜的募集以及膜泡的成核;膜泡的延伸、自噬底物的识别、自噬体的形成、自噬体与溶酶体的对接与融合、自噬体底物的降解以及降解产物的释放^[1-3]。其中,哺乳动物细胞与酵母细胞中早期自噬体膜的来源具有一定的差异。在哺乳动物细胞中,吞噬泡膜主要来源于内质网、高尔基体以及线粒体^[1-3]。与哺乳动物细胞不同,酵母中吞噬泡通常在细胞中靠近液泡的特定部位形成,但在吞噬泡的延伸过程中同样利用线粒体、内质网等来源的膜进行延伸。自噬相关蛋白质参与了自噬体从形成到融合的各个过程,其中一些蛋白质被认为是不可或缺的,如自噬相关蛋白1/Unc-51样激酶1(autophagy related 1/unc-51-like kinase 1, Atg1/ULK1)、Atg4以及Atg5等。自噬对于维持细胞的内稳态以及代谢平衡具有重要意义,自噬的异常会引起多种疾病,包括癌症、神经退行性变和心血管障碍等^[4-6]。

目前的研究表明,自噬参与了妊娠黄体功能的维持,并促进黄体退化过程中的细胞凋亡。本文对自噬在哺乳动物卵巢黄体功能维持及其退化过程中的作用进行综述,旨在为进一步研究哺乳动物卵巢黄体功能的调控机制提供重要的参考资料。

1 自噬概述

细胞的自噬活动受到一组专门基因的调控,这组基因被称为自噬相关基因(autophagy related gene, Atg)。这些基因的产物对自噬的各个阶段进行调节,如自噬的诱导、自噬体的成熟以及自噬体与溶酶体的融合等。在酵母中,Atg1作为调节自噬过程起始的核心蛋白参与了吞噬泡的形成。同样,Atg1在哺乳动物中的同源蛋白ULK1、ULK2也参与了哺乳动物细胞中自噬起始阶段的吞噬泡成核过程,其中ULKs的C-端主要起到蛋白定位的作用。饥饿或雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)的抑制均能够诱导ULKs的激活,激活后的ULKs能够将Beclin 1(酵母中Atg6的同源蛋白)的S14

位点进行磷酸化,从而提高第III类磷脂酰肌醇-3激酶(class III phosphatidylinositol-3 kinase, PI-3KC3)的活性^[7]。PI-3KC3的激活对于自噬体的成核具有重要作用。液泡蛋白分选34(vacuolar protein sorting 34, VPS34)是哺乳动物中唯一的III类磷脂酰肌醇-3激酶,能够与其他自噬相关蛋白形成复合体。在VPS34复合体的形成过程中,VPS34首先与十八烷基化丝氨酸苏氨酸激酶PI-3KC3的p150亚基(酵母中VSP15的同源蛋白)形成稳定复合体VPS34-p150,随后该复合体会进一步与Beclin 1结合,通过Beclin 1来招募其他自噬相关蛋白形成VPS34复合体,参与自噬体的形成过程^[7-9]。Beclin 1是一种B细胞淋巴瘤/白血病-2(B-cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)家族成员蛋白质,能够通过自身的不同区域将Beclin-1调控的自噬活化分子蛋白1(activating molecule in Beclin 1-regulated autophagy protein 1, Ambra1)以及抗紫外辐射的相关基因(ultraviolet radiation resistance-associated gene, UVRAG)等其他自噬所需的蛋白质募集到VPS34复合体上,从而参与膜泡的成核以及吞噬泡的延伸。但由于Beclin 1只有一个BH3结构域,因而在与Bcl-2结合后即失去调节自噬的功能^[10]。吞噬泡形成后需要进行不断地延伸才能最终形成闭合的双层膜结构将货物进行包裹。Atg12-Atg5-Atg16和Atg8-PE(phosphatidylethanolamine, 磷脂酰乙醇胺)是调节吞噬泡膜延伸以及自噬体形成的两个重要的偶联体系,这两种偶联体系的形成均受到一系列自噬相关蛋白的调控。在Atg12-Atg5-Atg16的形成过程中,Atg12在Atg7与Atg10的介导下与Atg5的赖氨酸残基结合形成Atg12-Atg5,随后再与Atg16以非共价键的形式结合形成Atg12-Atg5-Atg16,Atg16对于Atg12-Atg5在吞噬泡组装位点(phagophore assembly site, PAS)上的定位具有重要作用^[11]。在Atg8与PE的连接过程中,半胱氨酸蛋白酶Atg4首先将Atg8 C-端的甘氨酸残基暴露。随后,Atg7对剪切后的Atg8进行激活并协助其转运到Atg3(E2连接酶)上。最终在Atg3-Atg5的作用下与PE进行连接^[12]。Atg8能够通过调节自噬体膜的弯曲程度来控制自噬体的大小^[12],其在哺乳动物中的同源蛋白微管相关蛋白轻链3(microtubule associated protein 1 light chain 3, LC3)被广泛用于自噬的检测。LC3分为LC3-I和LC3-II两种形式,LC3-I为水溶性并呈弥散状分布于细胞内,LC3-II则为连接

PE后形成的脂溶性蛋白并呈点状分布于自噬体膜上。自噬体形成后, 连接在外膜的LC3-II被Atg4切除并重新释放到细胞质^[4-6]。成熟的自噬体被转运到溶酶体后需要在溶酶体相关膜蛋白2(lysosome-associated membrane protein 2, LAMP 2)与三磷酸尿苷酶(guanosinetriphosphate kinase, GTPase)Rab7的帮助下与溶酶体膜进行融合, 最后在一系列溶酶体酸性磷酸酶的作用下对内容物进行降解^[13-14]。

在哺乳动物细胞中, 自噬的诱导或抑制通常与ULK1的蛋白质水平以及活性密切相关。一方面, ULK1能够通过自身磷酸化对自身功能进行调控^[7,15]。另一方面, ULK1还受到多种上游蛋白的调节, 其中对于AMP-活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)以及哺乳动物雷帕霉素受体(mammalian target of rapamycin, mTOR)的研究相对较为透彻。AMPK作为细胞中的能量感受因子能够调节细胞的代谢以及能量平衡。当细胞处于饥饿状态下, ATP/ADP比值的降低会促进AMP水平升高从而激活AMPK, AMPK进一步通过将ULK1的Ser317和Ser777磷酸化从而激活ULK1^[15-16]。mTOR是细胞代谢调节的核心蛋白, 能够促进细胞内的蛋白合成。在自噬的调节过程中, mTOR起到与AMPK相反的作用, 当细胞处于营养充足等适于生存的条件下, mTOR通过对ULK1 Ser757的磷酸化来抑制ULK1的激活, 同时阻止ULK1与AMPK之间的相互作用从而抑制细胞的自噬^[7,15-16]。mTOR的活性受到蛋白激酶B(protein kinase B, Akt/PKB)信号通路的调控, Akt被激活后能够将结节性硬化复合体1/2(tuberous sclerosis complex1/2, TSC1/2)中的TSC2磷酸化, 从而抑制TSC1/2复合体的形成, 间接激活脑中富含的Ras同源物(Ras homolog enriched in brain, Rheb)及其下游的mTOR^[17]。近来的研究发现, 味觉受体家族1成员(taste receptor family 1 member, T1R)家族蛋白对mTOR的活性也具有调节作用。T1R家族是一类主要表达于细胞膜表面的G蛋白偶联受体, 包含三种成员蛋白即T1R1、T1R2和T1R3。其中, T1R1与T1R3组成的二聚体作为鲜味感受器主要表达于舌部组织^[18]。同时, 这些受体组合也在哺乳动物体内的其他器官内表达。鲜味受体T1R1/T1R3对诱导细胞在饥饿状态下的自噬过程具有重要作用, T1R1/T1R3能够直接感受胞外的营养状态以及可用氨基酸水平并将这一信号传递给mTOR, 从而实现对细

胞代谢活动的调节。此外, 基因敲除实验证实, 缺乏这一受体会降低胞外氨基酸水平对胞内mTOR复合体1(mTOR complex 1, mTORC1)的调控以及mTORC1在胞内的定位^[19-20]。

2 自噬在黄体功能调节中的作用

卵巢作为雌性动物的配子生成器官, 其功能的正常与否直接关系到配子的质量以及母体的成功受孕。Choi等^[21]在大鼠卵巢颗粒细胞中发现了自噬标志蛋白LC3-II的表达, 并揭示了颗粒细胞自噬与凋亡之间的调控机制。在卵母细胞中同样存在LC3的表达, 其表达水平与大鼠动情周期密切相关。在卵泡的闭锁过程中, 自噬参与了闭锁卵泡中颗粒细胞和卵母细胞的清除^[21-22]。在哺乳动物卵巢中, 黄体是卵泡排卵后由卵泡基膜细胞和颗粒细胞所形成的暂时性结构, 其作为雌性哺乳动物的重要腺体对妊娠母体孕酮水平及妊娠胎儿发育的调控起着不可或缺的作用^[23-24]。目前的研究已表明, 自噬参与了妊娠黄体功能的调节及随后的退化过程。

2.1 自噬与黄体功能

黄体是哺乳动物中特殊的内分泌腺, 在未受孕的条件下黄体通常只存在较短的一段时间, 这一时期通常被称为黄体期。在黄体末期即开始功能性退化, 胚胎的着床会改变黄体的退化周期使之转变成妊娠黄体从而支持早期胚胎的发育^[23-24]。妊娠黄体功能的维持需要众多调控因子的共同作用, 其中最重要的两种就是催乳素(prolactin, PRL)和雄激素。在怀孕或假孕的前一周PRL能够维持机体自身基础的孕酮分泌, 抑制PRL则会导致孕酮水平的下降。随着怀孕过程的进行, PRL的主要来源由垂体逐渐向子宫蜕膜和胎盘转移, 同时雄激素的来源也发生变化。在怀孕中期, 出现一系列明显的激素水平变化, 如垂体PRL峰结束、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)水平降低以及蜕膜的PRL分泌减少等。与此同时, 在胎盘作用下黄体血管生成、重量及类固醇合成能力均明显增加。

在哺乳动物妊娠中后期, 黄体的孕酮合成能力明显上升, 孕酮水平的上升促进了子宫内膜基质细胞的分化与子宫颈的增厚从而为胚胎发育提供适宜的生理环境^[23]。在人体中, 卵巢内的黄体细胞主要利用胆固醇来进行孕酮的合成。自噬通过噬脂的方式参与到黄体细胞中的脂代谢过程, 从而为细

胞提供合成类固醇所需的甘油三酯与胆固醇^[25-28]。*Beclin 1*参与了细胞自噬的诱导以及自噬体与溶酶体的融合过程,在妊娠黄体功能的调节中也起到重要作用^[22,29]。Gawriluka等^[29]利用孕酮启动子起始的环化重组酶(cyclization recombination enzyme, *Cre*)基因对小鼠卵巢内的*Beclin 1*进行条件性敲除,结果发现,黄体中的LC3-I与p62明显增加,而LC3-II则几乎不表达,表明*Beclin 1*的敲除抑制了小鼠黄体细胞内的自噬流(autophagy flux)。黄体细胞自噬的异常也导致了小鼠体内孕酮水平的变化。这种变化主要体现在小鼠妊娠阶段的中后期,*Beclin 1*的缺失使得小鼠孕酮水平的降低时间明显早于正常小鼠,这就使得*Beclin 1*条件性敲除小鼠胎儿早产的发生。怀孕早期小鼠体内的孕酮水平并不会受到*Beclin 1*缺失的影响,表明*Beclin 1*主要参与了妊娠后期孕酮水平的调节,但在怀孕早期并不发挥作用^[29]。自噬对黄体细胞中孕酮生成能力的调节主要体现在三个方面。首先,自噬能够对黄体细胞中的类固醇急性调节合成蛋白(steroids acute regulatory synthesis protein, StAR)表达进行调节,StAR是孕酮合成中的关键蛋白质,能将胞内胆固醇运至线粒体外膜从而进行类固醇的合成,*Beclin 1*敲除后黄体细胞中StAR的表达水平明显降低^[22,29]。其次,自噬能够对黄体细胞内一些细胞器的超微结构进行调节。观察发现,*Beclin 1*敲除后黄体细胞中部分细胞器的形态也发生了明显改变,例如合成类固醇细胞的线粒体会发生明显膨胀,而*Beclin 1*的缺失则使黄体细胞的线粒体体积明显变小^[29]。最后,自噬还参与了黄体细胞内脂质的储存,*Beclin 1*的敲除使小鼠黄体中脂质的储存明显降低。因而在*Beclin 1*敲除小鼠中,StAR表达水平的减低、线粒体结构的变化以及胞内类固醇合成原料的减少共同导致了黄体细胞孕酮合成、分泌能力的下降^[29]。通过对血小板内皮细胞黏附分子的表达分析证实,*Beclin 1*的缺失并不影响黄体血管的生成,但会降低黄体细胞中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,表明*Beclin 1*可能会对血管通透性产生影响^[22,29]。

Gaytán等^[30]对人黄体组织中*Beclin 1*的表达进行了定位,结果发现,*Beclin 1*主要在人卵巢的类固醇生成细胞中表达,而在卵巢的其他部位并不表达。同时发现,人黄体中*Beclin 1*的表达呈阶段性特征,即在早期及中期表达较为强烈,而后期则表达

微弱^[30]。膜黄体细胞与粒黄体细胞是黄体中由不同细胞类型分化而来的黄体细胞类型,其中粒黄体细胞主要功能是分泌孕酮。在人黄体的退化过程中粒黄体细胞较膜黄体细胞更早进入退化。*Beclin 1*在这两种细胞中的表达也存在差异,尤其是在黄体后期*Beclin 1*只在膜黄体细胞中表达,而在粒黄体细胞中的表达微弱^[30]。在妇女更年期等一些病理条件下,*Beclin 1*的表达只存在于正常黄体区域,表明*Beclin 1*参与黄体寿命的调节,*Beclin 1*表达水平的降低与黄体的退化密切相关;这一结果与黄体在不同时期的功能相吻合,由于线粒体是类固醇的合成位点,因而生成类固醇的细胞通常会受到线粒体或内质网受损的干扰,导致生成类固醇细胞比正常细胞更容易发生自噬^[22,29]。此外,由于人黄体中*Beclin 1*的表达区域与LH受体(luteinizing hormone receptor)表达区域高度重叠,表明*Beclin 1*的表达可能受到LH的直接或间接调控^[30]。

2.2 自噬与黄体退化

黄体的退化分为两个阶段,即功能性退化和结构性退化,其中功能性退化主要表现为黄体孕酮分泌的降低但形态变化并不明显,而结构性退化则主要表现为黄体大小以及重量的减少。大鼠黄体在功能性退化和结构性退化中分别受不同激素的调控。在黄体的功能退化阶段,LH对黄体的作用通路被阻断且前列腺素F_{2α}(prostaglandin F_{2α}, PGF_{2α})水平上升;PGF_{2α}通过抑制cAMP阻碍黄体孕酮的合成,在黄体早期并未发现PGF_{2α}的表达^[23]。将PGF_{2α}注入黄体会导致孕酮分泌水平的迅速下降。除受PGF_{2α}的作用外,其他因素也在黄体功能退化中起到重要作用,如雌二醇、免疫细胞、细胞因子与活性氧类(reactive oxygen species, ROS)等^[23,31]。

PGF_{2α}参与了黄体的功能性退化但并不直接引起黄体细胞的死亡,PRL的升高与抗坏血酸浓度的降低对黄体结构性退化过程中细胞凋亡起重要作用^[23,31]。近些年的研究表明,细胞凋亡并非清除黄体组织的唯一机制,自噬在黄体退化中也具有重要作用。对哺乳动物黄体生成类固醇细胞死亡的形态学观察发现,黄体后期类固醇生成细胞内含有大量双层膜结构的自噬体泡并诱发自噬介导的细胞死亡^[32-34]。通过自噬途径诱发的细胞死亡亦称为II型细胞程序性死亡,在人黄体退化中也发现了类似的形态学变化^[32-34]。LC3-II是自噬的特征蛋白质,其表

达的强弱反映了组织或细胞的自噬水平。Choi等^[33]对假孕大鼠黄体类固醇生成细胞中的LC3表达进行了分析, 结果表明, LC3在大鼠黄体中的表达呈现阶段性特征。在整个假孕过程中, LC3的表达呈现出升高的趋势并且晚期黄体中的LC3表达明显增强。自噬体膜成分LC3-II水平在晚期黄体中达到最高, 与黄体中胱冬肽酶-3(caspase-3)剪切体的表达趋势相一致。细胞实验进一步证实, PGF_{2α}的处理能够使黄体细胞中LC3-II与胱冬肽酶-3剪切体的表达水平同时增加, 表明PGF_{2α}诱导的自噬参与了黄体退化阶段黄体细胞凋亡的诱导^[33]。Baf A1(bafilomycin A1)与3-MA(3-methyladenine)能够对细胞内自噬体的聚集分别起抑制和促进作用。利用Baf A1对黄体细胞进行处理后, 细胞内的自噬体聚集明显增加并且细胞凋亡水平也明显上升; 而利用3-MA抑制自噬体形成后, 黄体细胞凋亡则随之减少, 表明自噬所引起的细胞凋亡是由自噬体的聚集所引起的^[33]。在哺乳动物细胞中, Bax/Bcl-2水平反应了细胞的存活或凋亡, Bax/Bcl-2比值的升高能够激活线粒体依赖性凋亡途径。抑制黄体细胞中自噬体形成后Bax表达明显减少, 而促进自噬体形成则使Bax的表达增加。相反, Bcl-2的表达在自噬被抑制后明显增加, 促进自噬则使Bcl-2表达减少, 表明Bax/Bcl-2比值的增加是由自噬体聚集所引起的, 自噬体聚集通过Bax/Bcl-2途径调控细胞凋亡, 即Bax/Bcl-2的增加激活了胱冬肽酶-3, 从而导致细胞凋亡^[33]。

PI-3K/Akt/mTOR信号通路以及丝裂原活化蛋白激酶激酶1/2(mitogen-activated protein kinase 1/2, MEK1/2)-胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase1/2, ERK1/2)-mTOR信号通路是调节细胞内自噬的两种重要机制。先前的研究已经表明, PI-3K/Akt/mTOR信号通路参与了大鼠卵巢颗粒细胞的自噬诱导过程^[21]。Choi等^[33]随后利用假孕模型大鼠和细胞体外培养模型对PGF_{2α}诱导的黄体细胞自噬分子调控机制进行了研究, 结果发现, PGF_{2α}处理后黄体细胞内Akt的活性明显下降而ERK1/2以及mTOR底物核糖体蛋白S6激酶(ribosomal protein S6 kinase, S6K)的活性则明显上升, 表明mTOR并未参与大鼠黄体退化过程中自噬的调节。然而, Aboelenain等^[32]发现, 在牛黄体退化过程中, mTOR表达水平的降低与自噬水平的上调有关, 因而不同物种黄体退化的机制可能存在一定的差异性。为了

验证Akt以及ERK1/2是否通过其他途径参与大鼠黄体细胞自噬的调节, Choi等^[33]分别利用抑制剂对体外培养的原代黄体细胞中Akt与ERK1/2的表达进行了抑制, 结果证实, Akt的抑制并不影响PGF_{2α}处理后黄体细胞自噬水平的上调, 而抑制ERK1/2的活性后黄体细胞内LC3-II的表达以及自噬体的数量均明显下降, 表明ERK1/2参与了PGF_{2α}诱导的大鼠黄体细胞自噬的诱导。体外实验证实, ERK1/2在假孕大鼠晚期黄体中的表达也明显高于早期以及中期, 这进一步验证了ERK1/2信号通路在大鼠黄体退化过程中的调控作用。

3 总结与展望

随着人们生活环境的复杂化, 越来越多的人遭受到生殖相关疾病的困扰。卵巢功能的健全与否与女性的生育能力密切相关, 而黄体作为卵巢的重要组成部分对于卵巢功能的维持起到不可替代的作用。黄体对于怀孕期间体内激素水平的调节是确保胎儿健康发育的关键, 而黄体的退化则是下一个动情周期开始的必要条件。自噬对妊娠后期孕酮水平的升高及退化过程中黄体结构的清除均具有重要的调节作用。然而, 有关自噬在病理条件下黄体的退化、功能的丧失以及黄体寿命延长中的调控机制目前仍了解甚少。由此可见, 阐明这些机制需要对自噬及其相关信号通路进行更深入细致的研究, 从而为相关疾病的认识与治疗药物的开发提供重要的理论依据。

参考文献 (References)

- 1 He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet* 2009; 43: 67-93.
- 2 Peterson JS, Timmons AK, Mondragon AA, McCall K. The end of the beginning: Cell death in the germline. *Curr Top Dev Biol* 2015; 114: 93-119.
- 3 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.
- 4 Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008; 451(7182): 1069-75.
- 5 Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 2008; 132(1): 27-42.
- 6 Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: A double-edged sword. *Science* 2004; 306(5698): 990-5.
- 7 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.
- 8 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.
- 9 Sun T, Li X, Zhang P, Chen WD, Zhang HL, Li DD, *et al.* Acetylation of Beclin 1 inhibits autophagosome maturation and promotes tumour growth. *Nat Commun* 2015; 6: 7215.
- 10 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.
- 11 Nair U, Yen WL, Mari M, Cao Y, Xie Z, Baba M, *et al.* A role for Atg8-PE deconjugation in autophagosome biogenesis. *Autophagy* 2012; 8(5): 780-93.
- 12 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.
- 13 Tanaka Y, Guhde G, Suter A, Eskelinen EL, Hartmann D, Lüllmann-Rauch R, *et al.* Accumulation of autophagic vacuoles and cardiomyopathy in LAMP-2-deficient mice. *Nature* 2000; 406(6798): 902-6.
- 14 Rothaug M, Stroobants S, Schweizer M, Peters J, Zunke F, Allerding M, *et al.* LAMP-2 deficiency leads to hippocampal dysfunction but normal clearance of neuronal substrates of chaperone-mediated autophagy in a mouse model for Danon disease. *Acta Neuropathol Commun* 2015; 3: 6.
- 15 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.
- 16 Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. AMPK and HIF signaling pathways regulate both longevity and cancer growth: the good news and the bad news about survival mechanisms. *Biogerontology* 2016; 17(4): 655-80.
- 17 Wu YT, Tan HL, Huang Q, Ong CN, Shen HM. Activation of the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway promotes necrotic cell death via suppression of autophagy. *Autophagy* 2009; 5(6): 824-34.
- 18 Nelson G, Chandrashekar J, Hoon MA, Feng L, Zhao G, Ryba NJ, *et al.* An amino-acid taste receptor. *Nature* 2002; 416(6877): 199-202.
- 19 Yu X, Zhang L, Miao X, Li Y, Liu Y. The structure features of umami hexapeptides for the T1R1/T1R3 receptor. *Food Chem* 2017; 221: 599-605.
- 20 Wauson EM, Guerra ML, Dyachok J, McGlynn K, Giles J, Ross EM, *et al.* Differential regulation of ERK1/2 and mTORC1 through T1R1/T1R3 in MIN6 cells. *Mol Endocrinol* 2015; 29(8): 1114-22.
- 21 Choi J, Jo M, Lee E, Choi D. Induction of apoptotic cell death via accumulation of autophagosomes in rat granulosa cells. *Fertil Steril* 2011; 95(4): 1482-6.
- 22 Gawriluk TR, Rucker EB. BECN1, corpus luteum function, and preterm labor. *Autophagy* 2015; 11(1): 183-4.
- 23 Wu L, Zhang Z, Pan X, Wang Z. Expression and contribution of the HIF-1 α /VEGF signaling pathway to luteal development and function in pregnant rats. *Mol Med Rep* 2015; 12(5): 7153-9.
- 24 Wang Z, Zhang Z, Wu Y, Chen L, Luo Q, Zhang J, *et al.* Effects of echinomycin on endothelin-2 expression and ovulation in immature rats primed with gonadotropins. *Exp Mol Med* 2012; 44(10): 615-21.
- 25 Velázquez AP, Tatsuta T, Ghillebert R, Drescher I, Graef M. Lipid droplet-mediated ER homeostasis regulates autophagy and cell survival during starvation. *J Cell Biol* 2016; 212(6): 621-31.
- 26 Wang K. Molecular mechanism of hepatic steatosis: Pathophysiological role of autophagy. *Expert Rev Mol Med* 2016; 18: e14.
- 27 Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M, *et al.* Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature* 2009; 458(7242): 1131-5.
- 28 Munson MJ, Ganley IG. MTOR, PIK3C3, and autophagy: Signaling the beginning from the end. *Autophagy* 2015; 11(12): 2375-6.
- 29 Gawriluk TR, Ko C, Hong X, Christenson LK, Rucker EB 3rd. Beclin-1 deficiency in the murine ovary results in the reduction of progesterone production to promote preterm labor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(40): E4194-203.
- 30 Gaytán M, Morales C, Sánchez-Criado JE, Gaytán F. Immunolocalization of beclin 1, a bcl-2-binding, autophagy-related protein, in the human ovary: Possible relation to life span of corpus luteum. *Cell Tissue Res* 2008; 331(2): 509-17.
- 31 Pan XY, Zhang ZH, Wu LX, Wang ZC. Effect of HIF-1 α /VEGF signaling pathway on plasma progesterone and ovarian prostaglandin F₂ secretion during luteal development of pseudopregnant rats. *Genet Mol Res* 2015; 14(3): 8796-809.
- 32 Aboelenain M, Kawahara M, Balboul AZ, Montasser Ael-M, Zabel SM, Okuda K, *et al.* Status of autophagy, lysosome activity and apoptosis during corpus luteum regression in cattle. *J Reprod Dev* 2015; 61(3): 229-36.
- 33 Choi J, Jo M, Lee E, Choi D. The role of autophagy in corpus luteum regression in the rat. *Biol Reprod* 2011; 85(3): 465-72.
- 34 Jiang YF, Hsu MC, Cheng CH, Tsui KH, Chiu CH. Ultrastructural changes of goat corpus luteum during the estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 2016; 170: 38-50.