



易聪博士, 2017年4月起, 受聘于浙江大学医学院生化系“百人计划研究员”、博士生导师、研究组长。实验室以酿酒酵母、哺乳动物细胞和小鼠为研究模型, 研究能量匮乏诱导自噬的分子机制及其生理功能。代表性论文发表在*Science*、*Molecular Cell*、*Developmental Cell*、*Autophagy*、*Nature Communications*等学术期刊上。

<http://person.zju.edu.cn/yconlab>

细胞自噬研究进展

李宜醒 姚伟静 易聪*

(浙江大学医学院, 基础医学院生物化学系, 浙江大学医学院附属第一医院
肝胆胰肿瘤精准诊治研究重点实验室, 杭州 310058)

摘要 细胞自噬是真核生物在进化过程中高度保守、基于溶酶体的一种胞内降解途径, 对维持细胞和生物体的稳态平衡有重要作用。研究表明, 自噬参与生物体发育、免疫反应、代谢调节、细胞凋亡和衰老等多种过程。自噬功能异常与神经退行性疾病、肿瘤等的发生发展密切相关。近30年, 我们对细胞自噬的认识无论是在分子机制上还是生理功能方面都有了长足的发展。为进一步加深对细胞自噬的认识, 该文主要对细胞自噬的概念、自噬核心机器的组成及调控机制、自噬类型、生理功能及与疾病的关系作一简单综述。

关键词 细胞自噬; 核心机器; 自噬类型; 生理功能; 自噬与疾病

The Research Progress of Autophagy

Li Yixing, Yao Weijing, Yi Cong*

(Department of Biochemistry, Key laboratory of Precision Diagnosis and Treatment for Hepatobiliary and Pancreatic Tumor of Zhejiang Province, First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract Autophagy is a highly conserved lysosome-based intracellular degradation pathway in eukaryotes, which plays an important role in maintaining the steady-state balance between cells and organisms. Researches have shown that autophagy is involved in many processes, such as biological development, immune response, metabolic regulation, apoptosis and aging etc. Dysfunction of autophagy is closely related to the occurrence and development of neurodegenerative diseases and tumors. In the past 30 years, autophagy has made great progress in molecular mechanism and physiological function. To further deepen our understanding about autophagy, this review mainly focuses on the concept of autophagy, the composition and regulation mechanism of autophagy core machinery, autophagy types, physiological functions, and related diseases.

Keywords autophagy; core machinery; autophagy types; physiological functions; autophagy and disease

国家自然科学基金(批准号: 31771528、91754107)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0571-88206967, E-mail: yiconlab@zju.edu.cn

This work was supported by the Natural National Science Foundation of China (Grant No.31771528, 91754107)

*Corresponding author. Tel: +86-571-88206967, E-mail: yiconlab@zju.edu.cn

网络出版时间: 2019-02-21 14:23:00

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190221.1422.012.html>

1 自噬的概念

生物体在保持体重不变的情况下, 体内的蛋白大概平均1~2个月就会更新一次。因此, 生物体为了维持体内的动态平衡, 需要不断地合成新的蛋白和降解受损或不需要的蛋白。目前已知在细胞中有两种蛋白质降解途径。一种是依赖于蛋白酶体的蛋白降解途径, 它通过蛋白酶体降解被泛素化标记的蛋白, 主要降解一些短寿命的蛋白; 另一种是依赖于溶酶体(或液泡)的蛋白降解途径, 它通过自噬体将需要降解的物质包裹, 并运送到溶酶体或液泡中利用其酸性水解酶将蛋白降解。主要降解的物质有蛋白聚集体、长寿命蛋白以及细胞中受损的细胞器如线粒体等, 以达到清除有害蛋白和物质重新利用的目的^[1]。

自噬(*autophagy*)是当今生命科学领域的研究热点之一。自噬这一概念最早是由溶酶体发现者、1965年诺贝尔生理学或医学奖获得者、比利时生物学家——De Duve^[2]在1963年一次溶酶体研讨会上提出的。自噬源于希腊文, 意思为*self-eating*。不过, 从自噬概念的提出后很长一段时间, 自噬的研究并没有太多发展, 研究者还停留在用电镜观察自噬体和自噬溶酶体的形态。这其中最主要的问题是缺乏一个可以追踪自噬体和自噬溶酶体的标记蛋白来研究它们的形态和生化特性。直到1992年日本科学家大隅良典实验室^[3-4]利用酿酒酵母在电镜下观察到, 酵母在氮源饥饿时, 其液泡中大量自噬体的存在, 并通过遗传筛选鉴定了15个自噬核心基因。由于在细胞自噬领域作出的杰出贡献, 也因此大隅良典获得了2016年诺贝尔生理学或医学奖。

2 自噬核心机器的组成及调控机制

2.1 Atg1-Atg13-Atg17复合体

*Atg1*是从酵母细胞中鉴定的第一个自噬必需基因, 它同时是一个蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶^[5]。*Atg13*蛋白, 与*Atg1*结合, 在正常培养条件下被TORC1高度磷酸化。在受到一些外界压力(如氮源饥饿、*rapamycin*处理)时, 通过激活磷酸酶PP2A迅速去磷酸化, 导致去磷酸化的*Atg13*与*Atg1*的结合增加, *Atg1-Atg13*结合到*Atg17-Atg29-Atg31*复合体上从而启动自噬发生, *Atg17-Atg29-Atg31*复合体以1:1:1的比例形成一个点状结构, 负责招募其他自噬蛋白, 而这种结构的存在并不依赖于培养条件^[6-9]。自噬实验中通

常用*Atg17*作为细胞自噬前体的标记物, *Atg1*在这个多元复合体中起着核心作用, 其激酶活性并不影响这个复合体的装配^[10]。在酿酒酵母细胞中, *Atg1*能够通过磷酸化*Atg9*、*Atg4*来调控细胞自噬的发生^[11-12]; 而*Atg1*在哺乳动物细胞中的同源物ULK1/2, 则通过磷酸化Beclin1来调节PI3K的活性^[13-14]。在细胞正常培养条件下, mTOR通过磷酸化ULK1上757位点抑制ULK1激酶的激活并破坏AMPK和ULK1的结合。而在能量匮乏条件下, mTOR活性降低, 激活的AMPK通过磷酸化自噬蛋白ULK1上的317和777位点而激活ULK1复合体^[15]。

2.2 Vps34复合物

细胞中有两类Vps34复合物, 都可以用来产生PI3P。复合物I由Vps34-Vps15-Atg6-Atg14组成, 最近也发现, *Atg38*蛋白也参与了复合物I的形成, 复合物I为自噬发生所必需^[16]; 复合物II则是Vps34-Vps15-Atg6-Vps38, 参与囊泡运输。其中, Vps34、Vps15与Atg6是两个复合物中均含有的亚基, *Atg14*和Vps38则调控了这两个复合物的细胞定位。Vps38把Vps34-Vps15-Atg6定位到内体上; *Atg14*蛋白把Vps34-Vps15-Atg6定位到自噬体上, 产生的PI3P通过招募自噬相关蛋白促进自噬体的形成^[17]。研究发现, AMPK通过磷酸化底物来调节两种VPS34复合体的PI3K活性^[18]。在能量匮乏条件下, AMPK通过磷酸化Vps34-Atg6-Vps15-Vps38中的Vps34蛋白来抑制PI(3)P生成并保护处于饥饿状态下的细胞。同时, AMPK通过磷酸化Vps34-Atg6-Vps15-Atg14中的Beclin1蛋白来激活Vps34-Atg6-Vps15-Atg14复合物从而促进自噬发生。此外, 还发现, 在氨基酸饥饿、Torin或是rapamycin处理细胞时, 激活的ULK1能够通过磷酸化Beclin1的S14和S30来增强与*Atg14*的结合, 从而参与细胞自噬的调控^[13-14]。

2.3 类泛素连接系统

自噬存在两个类泛素连接系统, 包括Atg5-Atg12和Atg8-PE两个修饰系统。两条泛素样修饰过程既独立又联系。Atg5-Atg12连接系统包括泛素样蛋白Atg12、激活酶Atg7、泛素结合酶Atg10及底物Atg5; 而Atg8-PE连接系统包括泛素样蛋白Atg8、半胱氨酸蛋白酶Atg4、激活酶Atg7、泛素结合酶Atg3及底物磷脂酰乙醇胺(PE)。

2.3.1 Atg5-Atg12连接系统 *Atg12*是大隅良典实验室^[19]发现的第一个泛素样自噬蛋白。Atg12首先

由E1酶Atg7激活,在Atg12羧基端186位甘氨酸残基与Atg7的507位半胱氨酸残基间形成硫酯键。接着,经过泛素结合酶Atg10修饰后,Atg12 C-端的甘氨酸残基和Atg5的赖氨酸残基间形成一个异二聚体。最后,Atg12-Atg5和coiled-coil蛋白Atg16连接形成一个Atg12-Atg5-Atg16L复合物。在自噬体形成的早期,Atg12-Atg5-Atg16L复合物定位在分离膜的外侧,决定了Atg8/LC3在膜上的定位及其酯化的位点^[20]。

2.3.2 Atg8连接系统 Atg8-PE连接系统是大隅良典实验室^[21]发现的另一个泛素样连接系统。首先,Atg8蛋白的第117位精氨酸残基被半胱氨酸蛋白酶Atg4切割,暴露出甘氨酸(Gly)残基。暴露了甘氨酸残基的Atg8被E1酶Atg7激活,使Atg8蛋白的甘氨酸残基和Atg7的半胱氨酸残基间形成硫酯键。接着,Atg8的甘氨酸残基和E2酶Atg3的半胱氨酸残基结合。最后,在E3酶Atg12-Atg5复合物的作用下,与PE结合形成酰胺带Atg8-PE。在哺乳动物中,经此加工修饰的LC3-I与PE结合后成为LC3-II。Atg4除了在Atg8泛素样修饰开始时使其暴露甘氨酸残基外,还在泛素样修饰的最后,切断Atg8-PE,使这些Atg8蛋白从膜上脱离。这种生物现象对Atg8的循环和自吞噬体膜的形成都至关重要。因此,Atg8常用来作为自噬发生的一个标记蛋白^[22]。实验表明,Atg8的表达量同自吞噬体的大小成正比^[23]。此外,Atg8/LC3还被发现通过含有LIR模块的受体蛋白Atg19、Atg32等直接结合介导选择性自吞噬发生^[24]。

2.4 Atg2-Atg18

Atg2-Atg18复合物定位于自噬前体上,这种定位依赖于PI3P的产生^[25],Atg18蛋白能够通过FRRG基序特异性结合PI3P和PI3,5P₂,细胞表达Atg18 FRRG突变体则导致Atg2-Atg18复合物无法定位到自噬前体上^[26]。在Atg2-Atg18缺失的细胞中,尽管其他自噬蛋白累积在自噬前体上,但是自噬的分离膜无法形成,说明Atg2-Atg18对于自噬体膜的形成非常重要^[25]。Atg18还可以与Fab1、Vac7、Vac14和Fig4形成另外一个复合物结合PI3,5P₂分布在液泡膜上并参与液泡形态的维持,但是不参与自噬的发生^[27-28]。最近研究发现,Atg2蛋白在其N-端的膜结合结构域通过与内质网结合形成分离膜,而在其C-端的一个膜结合结构域则促进了Atg18结合PI3P。即通过Atg2的这两个膜结合结构域把自噬前体停留在ER上以调控自噬分离膜的延伸^[29]。

2.5 Atg9-Atg23-Atg27

Atg9是自噬蛋白中唯一一个多次跨膜的膜蛋白,目前认为,Atg9的主要功能是为自噬体提供膜组分,大隅良典实验室^[30]发现,细胞中的大部分Atg9颗粒来自于高尔基体,其中又只有小部分Atg9颗粒与自噬体共定位,自噬蛋白Atg23和Atg27参与了Atg9颗粒运输到自噬体的过程。其中,Atg27蛋白还负责Atg9蛋白的正确定位,当Atg27蛋白缺失时,Atg9蛋白进入到液泡降解。此外,TRAPPIII复合物和sorting nexin蛋白也被发现与Atg9颗粒共定位参与Atg9颗粒运输^[31-32]。在哺乳动物细胞中,其同源物Atg9A主要分布在反面高尔基体管网状结构和内体上,还有一部分分布于细胞膜上^[33-34]。当细胞处于饥饿状态下时,Atg9A与自噬体的共定位明显增高,TRAPPIII复合物和sorting nexin蛋白也参与了Atg9颗粒运输,进一步说明了自噬功能的保守性^[35-36]。

3 自噬的类型及分子机制

根据自噬发生的分子机制、功能的不同可以将自噬分为微自噬(microautophagy)、分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)、选择性自噬(selective autophagy)和巨自噬(macroautophagy)。

3.1 微自噬(microautophagy)

微自噬是指溶酶体或液泡膜直接内陷包裹胞质物质或者细胞器进行降解的过程。关于微自噬,在酵母中研究的较多,但是分子机制还不是很清楚^[37]。酵母微自噬发生时,液泡膜逐渐凹陷形成细长的管状结构——微自噬管(microatophagic tube)。当细胞处于饥饿状态下时,液泡的内陷会由营养丰富时的17%上升至63%,表明饥饿状态下细胞物质降解大大增加,在酵母细胞中,已经发现过氧化物酶体、细胞核、内质网、线粒体、脂滴、细胞质等都是微自噬的底物,它们的降解有的需要自噬蛋白的参与,但是在微自噬发生过程中并没有发现自噬泡结构^[38]。最近研究发现,酵母微自噬的发生需要ESCRT蛋白机器的参与^[39]。在高等生物中的研究发现,微自噬在植物液泡中含有花青素结构物的积累以及小鼠胚胎发育过程中具有重要的生理意义^[40-41]。

3.2 分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)

分子伴侣介导的自噬是指具有特定基序的胞

质蛋白被分子伴侣识别后,与溶酶体膜上的特殊受体-溶酶体相关膜蛋白LAMP-2A结合,进入溶酶体被降解的溶酶体降解过程^[42]。它具体可以分为以下几个步骤:(1)底物的识别和溶酶体靶向运输;(2)底物的结合和去折叠;(3)底物进入到溶酶体并进行降解。首先,被分子伴侣介导的自噬底物一般都有KFERQ样序列,通过识别并结合协助蛋白跨膜转运的分子伴侣蛋白——热休克蛋白70(heat shock protein of 70 kDa, Hsp70)。随后在分子伴侣介导的自噬过程中Hsp70与其他分子伴侣蛋白Hsp90、Hsp40、HOP、HIP、Bag-1形成复合体。一旦被识别的底物与分子伴侣复合体结合,底物就被靶向到溶酶体表面并与LAMP2A结合、去折叠并转运入溶酶体腔进行降解。LAMP-2A是单次跨膜的溶酶体膜蛋白,胞质侧区域只有12个氨基酸残基,面对溶酶体的腔内区域高度糖基化^[43-44]。研究表明,分子伴侣介导的自噬功能异常与神经退行性疾病、癌症的发生发展密切相关^[45]。

3.3 选择性自噬(selective autophagy)

选择性自噬总体上自噬体的形态与非选择性自噬形态相似,同样需要自噬的核心机器。它们所不同的是,选择性自噬降解的是特定的底物;此外,选择性自噬需要通过特定的受体蛋白与自噬蛋白LC3/Atg8直接结合将细胞内蛋白聚集体或受损细胞器(如线粒体)等运送到溶酶体/液泡中进行降解,目前已知道的选择性自噬包括线粒体自噬、内质网自噬、过氧化物酶体自噬、CVT通路等(表1)。近年来,越来越多的研究表明,选择性自噬功能在维持细胞稳态方面具有重要的生理意义^[46]。研究发现,受体蛋白与自噬蛋白LC3/Atg8的结合需要通过受体蛋白上的LIR(LC3 interaction region)模块来完成^[24]。在酵母

细胞中,线粒体自噬需要受体蛋白Atg32通过LIR基序与Atg8结合对受损的线粒体进行特定清除^[24];而在哺乳动物细胞缺氧情况下,受损的线粒体则通过FUNDC1与LC3直接结合将其清除从而达到控制线粒体质量的目的^[46]。过氧化物酶体则需要受体蛋白Atg36通过LIR模块与Atg8结合对受损的过氧化物酶体进行清除^[47],Cvt通路则是通过受体蛋白Atg19与Atg11和Atg8结合,从而将底物Ape1运送到液泡中进行剪切^[48]。最近发现,酵母细胞中需要被降解的内质网和细胞核内蛋白能够通过特定受体蛋白Atg39和Atg40分别与Atg8结合进行清除^[49]。而在哺乳动物细胞中,受体蛋白FAM134B和RTN3通过结合LC3重塑内质网网络并维持其总体质量。而在内质网压力信号下,内质网跨膜受体蛋白CCPG1和Sec62则发挥主要功能^[50-53]。

3.4 巨自噬(macroautophagy)

巨自噬即我们通常所讲的自噬,是指细胞在饥饿、Rapamycin等刺激诱导下,细胞质内产生双层囊泡结构包裹非特定蛋白形成自噬体,随后自噬体与溶酶体/液泡融合,溶酶体/液泡里面的酸性水解酶最终将自噬体包裹的物质降解的过程。研究表明,Atg17-Atg29-Atg31复合体只对巨自噬需要,而对选择性自噬并不需要,但是上述所说的自噬核心组分对于巨自噬和选择性自噬都是需要的^[8]。巨自噬的细胞生物学过程可以分为欧米茄体(omegasome)/自噬前体形成、自噬体形成、自噬体同溶酶体融合、自噬体包裹物质的降解、降解产物从自噬溶酶体中释放以及溶酶体再生五个步骤(图1)^[59-61]。

4 自噬的生物学功能

从自噬被发现参与饥饿状态下细胞存活开始,

表1 选择性自噬的种类和受体

Table 1 Types and receptors of selective autophagy

自噬的种类 Types of selective autophagy	酵母受体 Receptors in yeast	哺乳动物 Mammal
Mitophagy	Atg32	NIX/BNIP3L, FUNDC1, optineurin, PINK1/Parkin, BCL2L13 ^[54-55]
ERphagy	Atg39, Atg40	FAM134B, RTN3, CCPG1, Sec62
Ribophagy	Unknown	NUFIP1 ^[56]
Lipophagy	Unknown	Unknown
Pexophagy	Atg36	Unknown
Cvt pathway	Atg19	Non-existent
Ubiquitin dependent autophagy	Cue5 ^[57]	TOLLIP ^[57] , P62 ^[58]

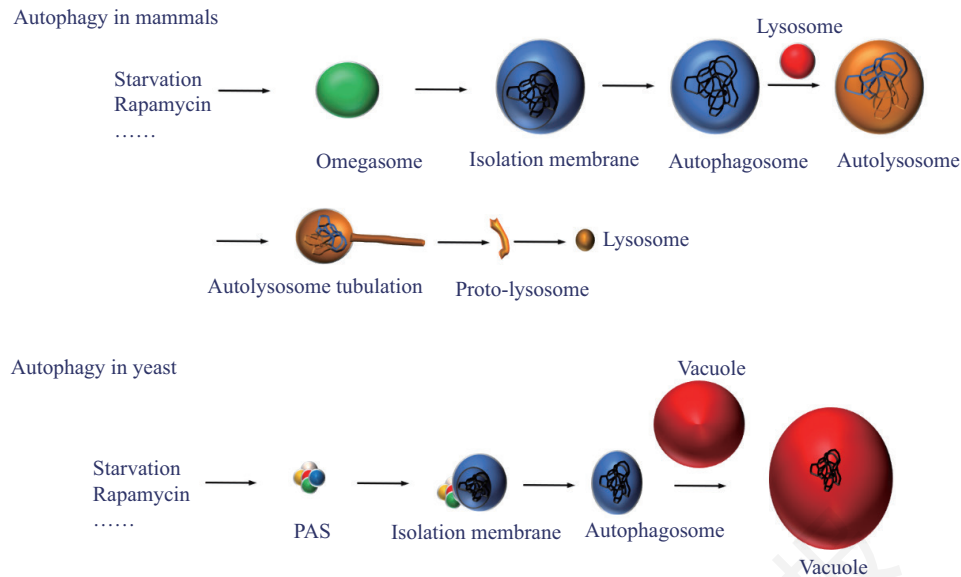


图1 在哺乳动物和酵母中自噬的过程

Fig.1 Schematic diagram of autophagy progress in mammalian and yeast

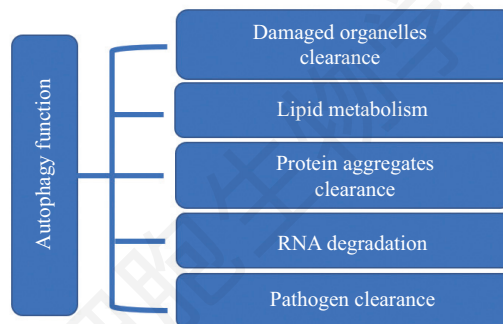


图2 自噬的生物学功能

Fig.2 The biological function of autophagy

越来越多的生物学功能与自噬密切相关(图2)^[1,61], 这里就不一一介绍了。我们着重讨论自噬参与脂质代谢、蛋白聚集体降解及RNA降解。

4.1 脂质代谢

脂质是细胞的基本组成成分, 在信号传导、细胞器互作、蛋白运输等许多生物学过程中扮演着非常重要的角色。为了保证生命体的正常运转, 脂质必须在细胞内不断循环和重新分布。研究表明, 自噬参与了脂质的循环利用。这个循环利用过程包括通过自噬或内吞作用向溶酶体募集脂质, 以便溶酶体水解酶降解。产生的分解代谢产物如脂肪酸等被重新分配到不同的细胞室以支持基本的细胞功能。研究发现, 当小鼠处于饥饿状态下时, 脂滴上出现了自噬蛋白LC3和其他一些自噬相关蛋白并形成双层膜结构去包裹脂滴, 随后包裹脂滴的自噬体与溶酶

体融合, 导致脂滴被降解。当用自噬抑制剂3-MA抑制细胞自噬发生时, 发现脂滴中的三酰甘油储存有所增加^[62]。研究还发现, 自噬能力随着年龄的增加会逐渐减弱。进一步研究发现, 自噬还可以通过控制脂质体脂肪细胞的分化和调控白色和棕色脂肪的比例来调节脂质的积累, 抑制自噬可以维持棕色脂肪的形态及功能^[63]。

4.2 蛋白聚集体降解

蛋白聚集体是细胞自噬降解的底物之一。研究表明, 如果细胞中的蛋白聚集体得不到及时有效的处理, 机体可能会发生一系列病变, 如神经退行性疾病、发育障碍等^[45]。神经退行性疾病, 如帕金森病、阿尔茨海默病、亨廷顿病等都与体内不正常累积泛素标记的蛋白质有密切关系, 自噬在防止神经退行性疾病的发生发展、清除细胞内积聚的不正常

蛋白质等方面发挥重要作用。研究发现,亨廷顿病是由亨廷顿蛋白突变造成其N末端多聚谷氨酰胺积聚在神经细胞中所引起^[64]。在亨廷顿病模型的小鼠大脑中发现,其自噬活性受到了明显抑制,如果对发病小鼠注射自噬诱导剂雷帕霉素,细胞内积聚的亨廷顿蛋白和细胞死亡数会出现明显的减少。对小鼠神经细胞进行组织特异性的自噬基因敲除,自噬功能的丧失足以引起小鼠发生神经退行性形变,而且是在没有任何神经退行性疾病相关蛋白质突变的前提下^[65]。这些研究足以表明,自噬在神经退行性形变疾病发生发展过程中的重要作用。突变的 α -synuclein蛋白积累是引起帕金森病发生发展的重要原因,研究发现, α -synuclein蛋白可以通过分子伴侣介导的自噬被降解,突变的 α -synuclein蛋白能与Hsc70-Lamp2a结合,但是不能进入到溶酶体降解,从而导致 α -synuclein蛋白过度积累引起病变^[45]。转录因子MEF2D是一种神经元存活维持所必需的蛋白,研究发现,MEF2D也是可以通过分子伴侣介导的自噬降解,在帕金森病患者神经细胞中有过量的积累,进一步研究发现,这是因为调节MEF2D蛋白降解的信号受到了损害,导致MEF2D蛋白的分子伴侣介导的自噬降解受到了抑制,使其在细胞质中过量积累^[45]。

4.3 RNA降解

最近陆续有报道发现,自噬参与了RNA的降解,对维持细胞核苷酸库稳态有重要作用。在酵母中结合代谢组学和分子生物学分析来研究自噬依赖的RNA分解代谢。传递到液泡的RNA被Rny1(一种T2型核糖核酸酶)处理,产生3'-NMP,这些NMP被液泡非特异性磷酸酶Pho8作用转化为核苷,如果将Rny1敲除,酵母液泡内则有大量的RNA积累。RNST-2,一种秀丽线虫T2家族内切核糖核酸酶,是降解溶酶体中核糖体RNA的关键酶^[66]。最新研究发现,rnst-2的缺失导致核糖体RNA和核糖体蛋白在溶酶体中积累,并且这两种表型都受到自噬阻断剂的抑制,这表明,RNST-2介导了溶酶体中核糖体RNA的自噬降解。进一步研究发现,RNST-2突变体严重影响了胚胎和幼虫的发育,值得注意的是,RNST-2的丢失和嘧啶核苷酸的新合成阻断可引发胚胎死亡,这一表型由于补充尿苷或胞苷被抑制,表明了核糖体RNA的自噬依赖性降解在动物发育过程中维持核苷酸稳态的重要作用^[67]。

5 自噬与人类疾病

随着对自噬研究的不断深入,分析系统性或组织特异性自噬基因缺失小鼠的表型发现,自噬与各种疾病如癌症、神经退行性疾病、感染性疾病和代谢性疾病之间有密切联系。然而,这些实验结果并不能直接证明自噬功能的缺陷有助于人类疾病的发生发展。因此,了解人类自噬相关疾病的遗传基础就显得尤为重要。随着人类基因组计划、国际HapMap计划分别于2003年、2005年完成,研究人员现在拥有一套强大的研究工具,包括高速DNA测序技术,该技术具有能够识别特定疾病的遗传贡献的特点。目前已经发现,自噬与许多人类疾病的发生发展有密切关系(图3),下面就克罗恩病(Crohn's disease)、溶酶体贮积症(lysosomal storage disorders, LSD)、癌症、帕金森病、Vici综合症(Vici syndrome)与自噬的关系作一介绍。

5.1 克罗恩病(Crohn's disease)

克罗恩病是一种胃肠道的慢性非特异性炎症性肠病,可影响从口腔到肛门的消化道的任何部分。这种疾病引起各种各样的症状,包括腹痛、腹泻、呕吐和体重减轻,以及胃肠道外的并发症,如疲劳、皮疹、眼睛炎症、贫血、关节炎和注意力不集中^[68]。研究表明,非同义单核苷酸多态性的全基因组关联研究Atg16L1变异体与克罗恩病易感性有关^[69]。Atg16L1是自噬机制的核心成分,是酵母自噬蛋白Atg16在哺乳动物中的同源物,它与Atg5-Atg12形成复合物促进LC3的脂质化从而参与自噬体的形成。Atg16L1蛋白的C-端具有WD重复结构域,克罗恩病Atg16L1相关突变位于该结构域内或紧邻该结构域的上游。对携带减少或消除Atg16L1表达的两种不同突变的小鼠的研究表明,Atg16L1突变与克罗恩病之间存在潜在的联系^[70]。在脂多糖的刺激下,Atg16L1缺陷的巨噬细胞产生更多的炎症细胞因子IL-1 β 和IL-18^[71]。除了Atg16L1之外,其他的自噬相关蛋白如IRGM和NOD2也与克罗恩病有关^[72-73]。

5.2 溶酶体贮积症(lysosomal storage disorders)

溶酶体贮积症(LSD),以细胞内未消化的大分子逐渐积累为特征,是由遗传基因突变引起的溶酶体稳态所造成。溶酶体贮积症可以导致多种系统的病变,也可仅限于神经系统,自胎儿出生至成年期均可发病,表现为病情呈进行性加重。绝大多数溶酶

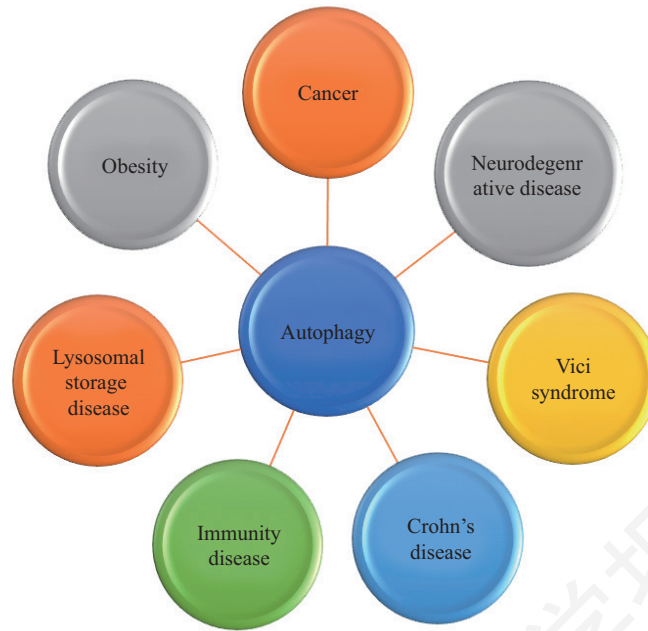


图3 自噬和疾病

Fig.3 Autophagy and disease

体贮积症以常染色体隐性方式遗传, 是常见的人类遗传病之一。研究发现, 在大多数溶酶体贮积症患者中, 溶酶体功能障碍往往伴随着细胞自噬流受损, 导致自噬体和溶酶体融合出现障碍, 最终引起自噬底物如P62、寡聚泛素化蛋白和损伤的线粒体等细胞器堆积^[74-76]。

5.3 癌症

自噬和癌症发生发展之间的联系研究的比较多。自噬作用可能在癌症发展的不同阶段有所不同; 最初, 自噬可能对癌症有预防作用, 但是一旦肿瘤发生, 癌细胞可以利用自噬进行自身细胞保护^[77]。在人乳腺癌、卵巢癌和前列腺肿瘤标本中都检测到 *Beclin1* 的单等位基因缺失。特别是, *Beclin1* (由人 *BECN1* 基因编码) 在多种肿瘤组织中的异常表达与不良预后相关^[78]。 *Beclin1* 是哺乳动物 *ATG6* 的同源基因, 在自噬中起着重要的作用。 *Beclin1* 还具有其他重要的生物学功能, 包括抗凋亡和内吞转运作用。除了 *Beclin1* 外, 一些自噬蛋白改变其自噬基因如 *Atg5* 和 *UVRAG* 的表达与人类的癌症发生发展密切相关^[79-80]。

5.4 帕金森病

帕金森病是神经退行性疾病中最常见的一种, 主要是由基底节区多巴胺能减少引起的。其临床特征是运动迟缓、休息震颤、肌肉僵硬、步态不稳和

姿势弯曲。它也可伴有各种非运动症状, 包括睡眠、自主、感觉、认知和精神障碍^[81]。许多基因突变与该病的发病机制有牵连。其中, 研究表明, *PARK2/Parkin* 和 *PARK6/PINK1* 的突变可导致常染色体隐性或散发性青少年发病的帕金森病。 *PINK1* 是一种线粒体相关蛋白激酶, 作用于 *Parkin* 上游, *Parkin* 是一种 E3 泛素连接酶。当线粒体受损并失去其膜电位时, 线粒体 *PINK1* 磷酸化 *Parkin* 并招募 *Parkin* 到线粒体上, 作为 E3 泛素连接酶的 *Parkin* 使许多线粒体膜蛋白泛素化, 导致受损的线粒体发生选择性自噬。与这个研究一致的是, 研究发现线粒体损伤过度与帕金森病有关^[82-83]。此外, 分子伴侣介导的自噬功能异常也在帕金森病的发生发展过程中发挥着非常重要的作用^[45]。

5.5 Vici综合症(Vici syndrome)

维希综合症是一种隐性遗传的多系统疾病, 特征为胼胝体发育不全、白内障、色素减退、心肌病、精神运动迟缓、唇腭裂的免疫缺陷。研究发现, *EPG5* 蛋白, 一个在自噬溶酶体成熟过程中起重要作用的蛋白, 它的突变可以导致维希综合症的发生。 *EPG5* 是一个多细胞特有的自噬基因, 它的突变或者缺失能够导致大量非降解性自噬溶酶体产生。同时自噬流被阻断, 自噬底物 P62 及 NBR1 大量积累, 自噬活性受到抑制^[84-86]。

6 展望

尽管我们在近30年以来对细胞自噬有了长足的认识,但是有些关键问题还需要进一步阐述。(1)膜的来源:目前有很多自噬体膜来源于线粒体、内质网或高尔基复合体等的假说,但最近的研究结果表明,为自噬体膜来源于内质网结构提供了强有力的证据。(2)自噬体双层膜如何封闭形成一个闭合的双层膜结构。(3)选择性自噬的分子机制:尽管目前选择性自噬受体不断被发现,但是其详细的分子机制还不清楚,是否还有更多的受体参与目前已知的选择性自噬还需要进一步解析。(4)自噬的新的生理功能:尽管目前自噬参与了许多生理功能,但更多的生理功能需要进一步挖掘。相信随着对这些问题更加深入的研究,我们对细胞自噬发生的分子机制、生理意义及与人类疾病的关系会有一个更加全面的认识。

参考文献 (References)

- Ohsumi Y. Historical landmarks of autophagy research. *Cell Res* 2014; 24(1): 9-23.
- De Duve C, Pressman BC, Gianetto R, Wattiaux R, Appelmans F. Tissue fractionation studies 6 intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J* 1955; 60(4): 604-17.
- Takehige 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.
- Tsukada M, Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* 1993; 333(1/2): 169-74.
- Matsuura A, Tsukada M, Wada Y, Ohsumi Y. Apg1p, a novel protein kinase required for the autophagic process in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 1997; 192(2): 245-50.
- 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.
- 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.
- Kabeya Y, Noda NN, Fujioka Y, Suzuki K, Inagaki F, Ohsumi Y. Characterization of the Atg17-Atg29-Atg31 complex specifically required for starvation-induced autophagy in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 389(4): 612-5.
- Yeasmin AM, Waliullah TM, Kondo A, Kaneko A, Koike N, Ushimaru T. Orchestrated action of PP2A antagonizes Atg13 phosphorylation and promotes autophagy after the inactivation of TORC1. *PLoS One* 2016; 11(12): e0166636.
- Kawamata T, Kamada Y, Kabeya Y, Sekito T, Ohsumi Y. Organization of the pre-autophagosomal structure responsible for autophagosome formation. *Mol Biol Cell* 2008; 19(5): 2039-50.
- 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.
- Sanchez-Wandelmer J, Kriegenburg F, Rohringer S, Schuschnig M, Gomez-Sanchez R, Zens B, *et al.* Atg4 proteolytic activity can be inhibited by Atg1 phosphorylation. *Nat Commun* 2017; 8: 295.
- Park JM, Seo M, Jung CH, Grunwald D, Stone M, Otto NM, *et al.* ULK1 phosphorylates Ser30 of BECN1 in association with ATG14 to stimulate autophagy induction. *Autophagy* 2018; 14(4): 584-597.
- 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.
- 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.
- Araki Y, Ku WC, Akioka M, May AI, Hayashi Y, Arisaka F, *et al.* Atg38 is required for autophagy-specific phosphatidylinositol 3-kinase complex integrity. *J Cell Biol* 2013; 203(2): 299-313.
- 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.
- Kim J, Kim YC, Fang C, Russell RC, Kim JH, Fan W, *et al.* Differential regulation of distinct Vps34 complexes by AMPK in nutrient stress and autophagy. *Cell* 2013; 152(1/2): 290-303.
- Mizushima N, Noda T, Yoshimori T, Tanaka Y, Ishii T, George MD, *et al.* A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature* 1998; 395(6700): 395-8.
- Mizushima N, Noda T, Ohsumi Y. Apg16p is required for the function of the Apg12p-Apg5p conjugate in the yeast autophagy pathway. *Embo Journal* 1999(14); 18: 3888-96.
- Ichimura Y, Kirisako T, Takao T, Satomi Y, Shimonishi Y, Ishihara N, *et al.* A ubiquitin-like system mediates protein lipidation. *Nature* 2000; 408(6811): 488-92.
- Kirisako T, Baba M, Ishihara N, Miyazawa K, Ohsumi M, Yoshimori T, *et al.* Formation process of autophagosome is traced with Apg8/Aut7p in yeast. *J Cell Biol* 1999; 147(2): 435-46.
- Xie Z, Nair U, Klionsky DJ. Atg8 controls phagophore expansion during autophagosome formation. *Mol Biol Cell* 2008; 19(8): 3290-8.
- Kanki T, Wang K, Cao Y, Baba M, Klionsky DJ. Atg32 is a mitochondrial protein that confers selectivity during mitophagy. *Dev Cell* 2009; 17(1): 98-109.
- Obara K, Sekito T, Niimi K, Ohsumi Y. The Atg18-Atg2 complex is recruited to autophagic membranes via phosphatidylinositol 3-phosphate and exerts an essential function. *J Biol Chem* 2008; 283(35): 23972-80.
- Krick R, Tolstrup J, Appelles A, Henke S, Thumm M. The relevance of the phosphatidylinositolphosphat-binding motif FRRGT of Atg18 and Atg21 for the Cvt pathway and autophagy. *FEBS Lett* 2006; 580(19): 4632-8.
- Dove SK, Piper RC, McEwen RK, Yu JW, King MC, Hughes DC, *et al.* Svp1p defines a family of phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate effectors. *EMBO J* 2004; 23(9): 1922-33.
- Jin N, Chow CY, Liu L, Zolov SN, Bronson R, Davison M, *et*

- al.* VAC14 nucleates a protein complex essential for the acute interconversion of PI3P and PI(3,5)P(2) in yeast and mouse. *EMBO J* 2008; 27(24): 3221-34.
- 29 Kotani T, Kirisako H, Koizumi M, Ohsumi Y, Nakatogawa H. The Atg2-Atg18 complex tethers pre-autophagosomal membranes to the endoplasmic reticulum for autophagosome formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018; 115(41): 10363-8.
- 30 Yamamoto H, Kakuta S, Watanabe TM, Kitamura A, Sekito T, Kondo-Kakuta C, *et al.* Atg9 vesicles are an important membrane source during early steps of autophagosome formation. *J Cell Biol* 2012; 198(2): 219-33.
- 31 Kakuta S, Yamamoto H, Negishi L, Kondo-Kakuta C, Hayashi N, Ohsumi Y. Atg9 vesicles recruit vesicle-tethering proteins Trs85 and Ypt1 to the autophagosome formation site. *J Biol Chem* 2012; 287(53): 44261-9.
- 32 Shirahama-Noda K, Kira S, Yoshimori T, Noda T. TRAPPIII is responsible for vesicular transport from early endosomes to Golgi, facilitating Atg9 cycling in autophagy. *J Cell Sci* 2013; 126(21): 4963-73.
- 33 Young AR, Chan EY, Hu XW, Kochl R, Crawshaw SG, High S, *et al.* Starvation and ULK1-dependent cycling of mammalian Atg9 between the TGN and endosomes. *J Cell Sci* 2006; 119(18): 3888-900.
- 34 Mattera R, Park SY, De Pace R, Guardia CM, Bonifacino JS. AP-4 mediates export of ATG9A from the trans-Golgi network to promote autophagosome formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(50): E10697-706.
- 35 Popovic D, Dikic I. TBC1D5 and the AP2 complex regulate ATG9 trafficking and initiation of autophagy. *EMBO Rep* 2014; 15(4): 392-401.
- 36 Soreng K, Munson MJ, Lamb CA, Bjorndal GT, Pankiv S, Carlsson SR, *et al.* SNX18 regulates ATG9A trafficking from recycling endosomes by recruiting Dynamin-2. *EMBO Rep* 2018; 19(4): e44837.
- 37 Mijaljica D, Prescott M, Devenish RJ. Microautophagy in mammalian cells: revisiting a 40-year-old conundrum. *Autophagy* 2011; 7(7): 673-82.
- 38 Uttenweiler A, Mayer A. Microautophagy in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Methods Mol Biol* 2008; 445: 245-59.
- 39 Oku M, Maeda Y, Kagohashi Y, Kondo T, Yamada M, Fujimoto T, *et al.* Evidence for ESCRT- and clathrin-dependent microautophagy. *J Cell Biol* 2017; 216(10): 3263-74.
- 40 Chanoca A, Kovinich N, Burkel B, Stecha S, Bohorquez-Restrepo A, Ueda T, *et al.* Anthocyanin vacuolar inclusions form by a microautophagy mechanism. *Plant Cell* 2015; 27(9): 2545-59.
- 41 Kawamura N, Sun-Wada GH, Aoyama M, Harada A, Takasuga S, Sasaki T, *et al.* Delivery of endosomes to lysosomes via microautophagy in the visceral endoderm of mouse embryos. *Nat Commun* 2012; 3: 1071.
- 42 Kaushik S, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: a unique way to enter the lysosome world. *Trends Cell Biol* 2012; 22(8): 407-17.
- 43 Chiang HL, Terlecky SR, Plant CP, Dice JF. A role for a 70-kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins. *Science* 1989; 246(4928): 382-5.
- 44 Agarraberes FA, Dice JF. A molecular chaperone complex at the lysosomal membrane is required for protein translocation. *J Cell Sci* 2001; 114(13): 2491-9.
- 45 Cuervo AM, Wong E. Chaperone-mediated autophagy: roles in disease and aging. *Cell Res* 2014; 24(1): 92-104.
- 46 Liu L, Feng D, Chen G, Chen M, Zheng Q, Song P, *et al.* Mitochondrial outer-membrane protein FUNDC1 mediates hypoxia-induced mitophagy in mammalian cells. *Nat Cell Biol* 2012; 14(2): 177-85.
- 47 Motley AM, Nuttall JM, Hettema EH. Pex3-anchored Atg36 tags peroxisomes for degradation in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J* 2012; 31(13): 2852-68.
- 48 Leber R, Sillescu E, Sandoval IV, Mazon MJ. Yol082p, a novel CVT protein involved in the selective targeting of aminopeptidase I to the yeast vacuole. *J Biol Chem* 2001; 276(31): 29210-7.
- 49 Mochida K, Oikawa Y, Kimura Y, Kirisako H, Hirano H, Ohsumi Y, *et al.* Receptor-mediated selective autophagy degrades the endoplasmic reticulum and the nucleus. *Nature* 2015; 522(7556): 359-62.
- 50 Khaminets A, Heinrich T, Mari M, Grumati P, Huebner AK, Akutsu M, *et al.* Regulation of endoplasmic reticulum turnover by selective autophagy. *Nature* 2015; 522(7556): 354-8.
- 51 Grumati P, Morozzi G, Holper S, Mari M, Harwardt MI, Yan R, *et al.* Full length RTN3 regulates turnover of tubular endoplasmic reticulum via selective autophagy. *Elife* 2017; doi: 10.7554/eLife.25555.
- 52 Smith MD, Harley ME, Kemp AJ, Wills J, Lee M, Arends M, *et al.* CCPG1 Is a Non-canonical autophagy cargo receptor essential for ER-phagy and pancreatic ER proteostasis. *Dev Cell* 2018; 44(2): 217-32, e11.
- 53 Fumagalli F, Noack J, Bergmann TJ, Cebollero E, Pisoni GB, Fasana E, *et al.* Translocon component Sec62 acts in endoplasmic reticulum turnover during stress recovery. *Nat Cell Biol* 2016; 18(11): 1173-84.
- 54 Yamaguchi O, Murakawa T, Nishida K, Otsu K. Receptor-mediated mitophagy. *J Mol Cell Cardiol* 2016; 95: 50-6.
- 55 Liu L, Sakakibara K, Chen Q, Okamoto K. Receptor-mediated mitophagy in yeast and mammalian systems. *Cell Res* 2014; 24(7): 787-95.
- 56 Wyant GA, Abu-Remaileh M, Frenkel EM, Laqtom NN, Dharamdasani V, Lewis CA, *et al.* NUFIP1 is a ribosome receptor for starvation-induced ribophagy. *Science* 2018; 360(6390): 751-8.
- 57 Lu K, Psakhye I, Jentsch S. Autophagic clearance of polyQ proteins mediated by ubiquitin-Atg8 adaptors of the conserved CUET protein family. *Cell* 2014; 158(3): 549-63.
- 58 Bjorkoy G, Lamark T, Brech A, Outzen H, Perander M, Overvatn A, *et al.* p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death. *J Cell Biol* 2005; 171(4): 603-14.
- 59 Axe EL, Walker SA, Manifava M, Chandra P, Roderick HL, Habermann A, *et al.* Autophagosome formation from membrane compartments enriched in phosphatidylinositol 3-phosphate and dynamically connected to the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol* 2008; 182(4): 685-701.
- 60 Yu L, McPhee CK, Zheng L, Mardones GA, Rong Y, Peng J, *et al.* Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. *Nature* 2010; 465(7300): 942-6.
- 61 Feng Y, He D, Yao Z, Klionsky DJ. The machinery of macroau-

- tophagy. *Cell Res* 2014; 24(1): 24-41.
- 62 Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M, *et al.* Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature* 2009; 458(7242): 1131-5.
- 63 Altshuler-Keylin S, Shinoda K, Hasegawa Y, Ikeda K, Hong H, Kang Q, *et al.* Beige adipocyte maintenance is regulated by autophagy-induced mitochondrial clearance. *Cell Metab* 2016; 24(3): 402-19.
- 64 Ravikumar B, Duden R, Rubinsztein DC. Aggregate-prone proteins with polyglutamine and polyalanine expansions are degraded by autophagy. *Hum Mol Genet* 2002; 11(9): 1107-17.
- 65 Rubinsztein DC. The roles of intracellular protein-degradation pathways in neurodegeneration. *Nature* 2006; 443(7113): 780-6.
- 66 Wang H, Wan H, Li X, Liu W, Chen Q, Wang Y, *et al.* Atg7 is required for acrosome biogenesis during spermatogenesis in mice. *Cell Res* 2014; 24(7): 852-69.
- 67 Liu Y, Zou W, Yang P, Wang L, Ma Y, Zhang H, *et al.* Autophagy-dependent ribosomal RNA degradation is essential for maintaining nucleotide homeostasis during *C. elegans* development. *Elife* 2018; doi: 10.7554/eLife.36588.
- 68 Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet* 2012; 380(9853): 1590-605.
- 69 Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K, *et al.* A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet* 2007; 39(2): 207-11.
- 70 Fujita N, Saitoh T, Kageyama S, Akira S, Noda T, Yoshimori T. Differential involvement of Atg16L1 in Crohn disease and canonical autophagy: analysis of the organization of the Atg16L1 complex in fibroblasts. *J Biol Chem* 2009; 284(47): 32602-9.
- 71 Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, *et al.* Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1 β production. *Nature* 2008; 456(7219): 264-8.
- 72 Parkes M, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Anderson CA, Fisher SA, *et al.* Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet* 2007; 39(7): 830-2.
- 73 Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, *et al.* Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411(6837): 599-603.
- 74 Settembre C, Fraldi A, Jahreiss L, Spampinato C, Venturi C, Medina D, *et al.* A block of autophagy in lysosomal storage disorders. *Hum Mol Genet* 2008; 17(1): 119-29.
- 75 Shimada Y, Klionsky DJ. Autophagy contributes to lysosomal storage disorders. *Autophagy* 2012; 8(5): 715-6.
- 76 Bartolomeo R, Cinque L, De Leonibus C, Forrester A, Salzano AC, Monfregola J, *et al.* mTORC1 hyperactivation arrests bone growth in lysosomal storage disorders by suppressing autophagy. *J Clin Invest* 2017; 127(10): 3717-29.
- 77 White E. Deconvoluting the context-dependent role for autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer* 2012; 12(6): 401-10.
- 78 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.
- 79 Liu H, He Z, von Rutte T, Yousefi S, Hunger RE, Simon HU. Down-regulation of autophagy-related protein 5 (ATG5) contributes to the pathogenesis of early-stage cutaneous melanoma. *Sci Transl Med* 2013; 5(202): 202ra123.
- 80 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.
- 81 Fahn S. Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome. *Ann Ny Acad Sci* 2003; 991: 1-14.
- 82 Schapira AH. Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2008; 7(1): 97-109.
- 83 Narendra D, Tanaka A, Suen DF, Youle RJ. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J Cell Biol* 2008; 183(5): 795-803.
- 84 del Campo M, Hall BD, Aeby A, Nassogne MC, Verloes A, Roche C, *et al.* Albinism and agenesis of the corpus callosum with profound developmental delay: Vici syndrome, evidence for autosomal recessive inheritance. *Am J Med Genet* 1999; 85(5): 479-85.
- 85 Tian Y, Li Z, Hu W, Ren H, Tian E, Zhao Y, *et al.* *C. elegans* screen identifies autophagy genes specific to multicellular organisms. *Cell* 2010; 141(6): 1042-55.
- 86 Zhao YG, Zhao H, Sun H, Zhang H. Role of Epg5 in selective neurodegeneration and Vici syndrome. *Autophagy* 2013; 9(8): 1258-62.