

# 溶酶体的生物学功能与相关疾病研究进展

许银丰<sup>1\*</sup> 万伟<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>湖南第一师范学院, 基础生物学实验室, 长沙 410205; <sup>2</sup>浙江大学医学院生物化学与分子生物学系, 杭州 310058)

**摘要** 近年来的研究发现, 溶酶体不只是细胞内代谢废物的回收站, 在细胞内的物质运输、细胞膜修复、糖脂代谢等过程中均发挥重要作用。溶酶体在营养物质相关的信号转导过程中也充当关键的调控点。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物1(mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)和腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)作为细胞内重要的代谢调节蛋白, 均可以在溶酶体膜处激活。此外, 溶酶体作为自噬途径的降解中心, 通过与自噬体融合获取并降解自噬底物, 在蛋白和细胞器的质量控制方面发挥重要作用。MiT/TFE(microphtalmia/transcription factor E)蛋白家族通过促进几乎一整套溶酶体基因的表达, 从而促进溶酶体的生物发生。溶酶体活性的异常与代谢紊乱、神经退行性疾病和肿瘤等疾病的发生发展密切相关。该文将对溶酶体的生物学功能以及其功能异常引起的相关疾病进行综述。

**关键词** 溶酶体; 自噬; 代谢; 神经退行性疾病; 肿瘤

## Lysosome Function and Lysosome-Related Diseases

Xu Yinfeng<sup>1\*</sup>, Wan Wei<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Laboratory of Basic Biology, Hunan First Normal University, Changsha 410205, China; <sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)

**Abstract** Lysosome has been viewed as the recycling center in mammalian cells for a long time. However, recent discoveries have uncovered a central role of lysosome in intracellular trafficking, membrane repair, nutrient sensing and cell metabolism. Relocation of mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) or AMP-activated protein kinase (AMPK), two master regulators of cell metabolism, from cytoplasm to lysosomal surface, is required for their activation. In addition, lysosome maintains the quality control of proteins and organelles through an autophagy-dependent manner. Microphtalmia/transcription factor E (MiT/TFE) proteins regulate lysosome biogenesis by stimulating the expression of the entire classes of lysosomal genes. Dysfunction of lysosomes leads to a variety of diseases, including metabolism disorders, neurodegenerative diseases, and cancer. We would review the role of lysosome in autophagy, nutrient sensing, cell metabolism and diseases in this paper.

**Keywords** lysosome; autophagy; cell metabolism; neurodegeneration; cancer

1955年, 比利时人 Christian de Duve<sup>[1]</sup>首次在大鼠肝细胞中发现溶酶体, 后续的研究发现, 细胞内的多种生物大分子物质主要在溶酶体内进行降解。溶

酶体的一个显著特征是拥有酸性的内环境(pH值介于4.5~5.5)。酸性环境有利于维持溶酶体内大量水解酶(包括蛋白酶、糖苷酶和脂肪酶等)的活性。细

收稿日期: 2018-11-11 接受日期: 2019-02-27

湖南省教育厅科研基金(批准号: 17B056)、湖南省自然科学基金(批准号: 2017JJ3047)和国家自然科学基金(批准号: 31701213)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 15116207321, E-mail: 11018146@zju.edu.cn

Received: November 11, 2018 Accepted: February 27, 2019

This work was supported by the Scientific Research Fund of Hunan Provincial Education Department (Grant No.17B056), Hunan Provincial Natural Science Foundation (Grant No.2017JJ3047) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31701213)

\*Corresponding author. Tel: +86-15116207321, E-mail: 11018146@zju.edu.cn

网络出版时间: 2019-08-12 14:53:54

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190812.1453.012.html>

胞利用吞噬(phagocytosis)、巨胞饮(macropinocytosis)和自噬(autophagy)等在内的多种途径, 将细胞外的生物大分子和细胞内蛋白聚集体以及受损细胞器等送到溶酶体内进行降解<sup>[2]</sup>。

溶酶体强大的降解作用对于细胞内毒性物质的清理、受损细胞器的清除、信号转导的调控、细胞内环境的维持都非常重要。如果编码溶酶体水解酶或者渗透酶的基因发生了突变, 影响了这些蛋白的正常功能, 常常会引发一类称作溶酶体贮积症(lysosomal storage disease, LSD)的遗传病。衰老引起的肝脏等器官的功能衰退也与溶酶体功能的下降密切相关<sup>[3]</sup>。快速分裂的肿瘤细胞则需要利用溶酶体的降解功能应对肿瘤微环境的改变和营养物质的匮乏<sup>[4]</sup>。

近年来的大量研究从根本上改变了以往对于溶酶体的固有看法, 表明溶酶体不仅是细胞内各种代谢废物的降解回收站, 也是细胞内复杂的信号网络的重要调控点<sup>[5]</sup>。本文将围绕近年来关于溶酶体功能的新发现, 重点介绍溶酶体作为代谢网络中的关键调控点, 在营养物质的感应和代谢以及相关疾病中的作用。

## 1 溶酶体的基本功能

### 1.1 溶酶体的生物发生过程

溶酶体存在于所有真核细胞内, 但是不同细胞含有的溶酶体在形状、大小、数量和功能方面相差极大。大多数哺乳动物细胞含有数百个直径为0.1~1 μm的溶酶体, 而酵母和植物细胞则含有1个或者数个类似于溶酶体的液泡<sup>[1,6]</sup>。溶酶体属于单层膜包裹的细胞器, 大量的跨膜蛋白镶嵌在溶酶体膜内。大部分溶酶体膜蛋白位于溶酶体腔内的部分都是高度糖基化的, 以保护其不被溶酶体内的蛋白水解酶降解<sup>[5,7]</sup>。近年来, 溶酶体蛋白质组学分析发现了一些全新的功能未知的溶酶体蛋白, 它们可能参与生物大分子的降解、代谢产物的转运和信号转导等<sup>[8]</sup>。

溶酶体主要起源于细胞内的囊泡运输系统。网格蛋白(clathrin)介导的细胞膜处的内吞作用将细胞外的货物包裹进囊泡, 形成早期内吞体(early endosome)。早期内吞体通过与来源于高尔基体的囊泡融合产生晚期内吞体/多泡体(late endosome/multivesicular body, MVB)<sup>[9]</sup>。多泡体的特点是内部

含有多个囊泡内陷形成的小泡结构, 最早被发现是在捕获和降解表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)的过程中发挥作用。后续研究发现, 多泡体也可以接受来自反面高尔基体(trans-Golgi network, TGN)的货物, 或者将货物重新运送到反面高尔基体处<sup>[10]</sup>。除了转化为晚期内吞体/多泡体, 早期内吞体也可以重新运输回到细胞膜处, 或者分裂产生循环内吞体(recycling endosome)。循环内吞体也可以重新运输回到细胞膜处, 或者逆向运输到反面高尔基体处<sup>[11]</sup>。溶酶体的发生过程是细胞内囊泡运输系统的组成部分, 早期内吞体到晚期内吞体的转化过程中伴随着腔内环境的逐步酸化, 来源于高尔基体携带一整套溶酶体水解酶以及其他溶酶体蛋白的囊泡通过与酸化的晚期内吞体融合, 最终形成具有强大降解能力的成熟溶酶体。近年来的研究发现, 细胞内的溶酶体也可以通过自噬性溶酶体再生(autophagic lysosome reformation, ALR)产生, 在自噬途径的晚期, 自噬体与溶酶体融合形成的自噬溶酶体可以通过将溶酶体特异组分分离出去形成溶酶体<sup>[12]</sup>(图1)。

溶酶体在细胞内的运动主要在微管(microtubule)上进行。溶酶体可以依靠驱动蛋白(kinesin)从微管正极向微管负极进行移动, 也可以依靠动力蛋白(dynein)从微管负极向微管正极进行移动。溶酶体在细胞内可以频繁快速地改变运动方向<sup>[13]</sup>, 但是溶酶体的运动速率和方向受到哪些因素的调控目前仍然不是很清楚, 目前的研究表明, 可能与溶酶体的酸化、细胞的迁移和细胞内营养物质的平衡密切相关<sup>[13]</sup>。

### 1.2 溶酶体发生的转录调控

近年来的研究发现, 编码溶酶体蛋白的大量基因(包括水解酶、渗透酶和膜蛋白等)可以同时受到一些特定转录因子的调控<sup>[14]</sup>。生物信息学分析发现, 在很多溶酶体基因的启动子区域存在称作协调溶酶体表达和调控(coordinated lysosomal expression and regulation, CLEAR)元件的碱基序列。启动子区域拥有CLEAR元件的基因一般会受到一类称作MiT/TFE(microphthalmia/transcription factor E)蛋白家族的转录因子的调控<sup>[15]</sup>。MiT/TFE蛋白家族的主要成员包括转录因子EB(transcription factor EB, TFEB)、转录因子EC(transcription factor EC, TFEC)、转录因子E3(transcription factor E3, TFE3)和小眼畸形相关转录

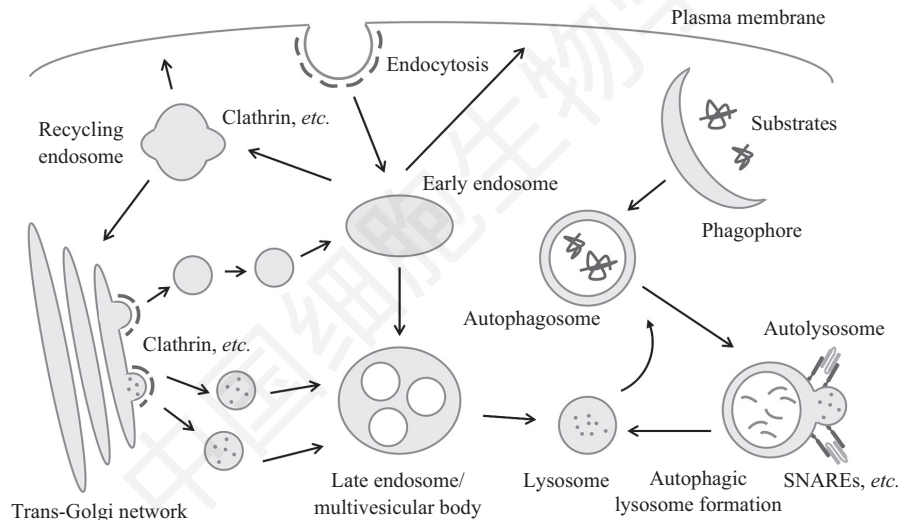
因子(microphthalmia-associated transcription factor, MITF)<sup>[14-15]</sup>。TFEB和MiT/TFE蛋白家族的其他成员可以直接与CLEAR元件结合,促进下游靶基因的表达<sup>[16]</sup>。有意思的是,TFEB同时也会促进大量自噬相关蛋白的表达<sup>[16]</sup>。TFEB通过协调促进自噬和溶酶体的生物发生,能够显著增强溶酶体的降解效率。肝脏特异性敲除*Tfeb*的小鼠对高脂饮食极为敏感,而肝脏特异性高表达*Tfeb*的小鼠则能够拮抗高脂饮食引起的脂质累积<sup>[17]</sup>。

### 1.3 溶酶体参与自噬底物的降解

自噬是一类真核生物特有的降解细胞内蛋白聚集体和受损细胞器等成分的自我消化途径的总称。真核细胞中主要存在三种形式的自噬途径:巨自噬、分子伴侣介导的自噬和微自噬(microautophagy)<sup>[18-19]</sup>。分子伴侣蛋白通过识别并结合底物蛋白上特异性的氨基酸序列,将底物蛋白运

送到溶酶体进行降解的过程,称作分子伴侣介导的自噬<sup>[19]</sup>。而哺乳动物的晚期内吞体/溶酶体或者酵母的液泡利用膜内陷直接将底物包裹进来进行降解的过程,则称作微自噬<sup>[20-21]</sup>。巨自噬(本文称自噬)发生的时候,细胞内首先会形成称作自噬体的双层膜结构的囊泡,自噬体在形成的过程中会将待降解的物质包裹起来,自噬体闭合后与溶酶体融合,将底物运送至溶酶体进行降解<sup>[18]</sup>(图1)。因此,以上三种形式的自噬途径最终都是严格依赖溶酶体发挥降解作用的。

在营养充足的条件下,大多数的组织器官中自噬水平都比较低。然而,在一些应激压力下,如饥饿和缺氧等,自噬水平会迅速提高<sup>[22]</sup>。蛋白激酶哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物1(mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)和腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是两



细胞内吞作用包裹的货物被运送到早期内吞体,早期内吞体逐步成熟后转化为晚期内吞体/多泡体,晚期内吞体/多泡体与后高尔基体运输(post-Golgi trafficking)产生的囊泡(含有一整套的溶酶体水解酶和其他溶酶体蛋白)融合形成成熟的溶酶体。此外,在自噬途径的晚期,自噬溶酶体也可以通过自噬性溶酶体再生特异性地分离产生溶酶体。早期内吞体可以重新运输回到细胞膜处,或者分裂产生循环内吞体。循环内吞体也可以重新运输回到细胞膜处,或者逆向运输到反面高尔基体处。自噬是真核细胞特有的依赖于溶酶体的降解途径。细胞内含有双层膜结构的隔离膜包裹一些待降解物质,如蛋白聚集体和受损的细胞器等,长大延伸形成闭合的自噬体,然后与溶酶体融合形成自噬溶酶体,从而将底物运送到溶酶体,然后利用溶酶体内的水解酶将底物降解。

The vesicles filled with cargoes endocytosed from the plasma membrane or derived from post-Golgi trafficking are delivered to early endosomes. After progressive maturation and acidification of the lumen, early endosomes are converted to late endosomes/multivesicular bodies. Late endosomes then acquire degradation capacity by fusing with the vesicles from post-Golgi trafficking filled with a full complement of hydrolytic enzymes and convert to mature lysosomes. Early endosomes also can be transported to plasma membrane or converted to recycling endosomes, a more dynamic form of early endosomes featured with tabulations. Recycling endosomes can be transported to plasma membrane or trans-Golgi networks (TGNs). Lysosomes also can be regenerated from autolysosomes. During autophagic lysosome reformation (ALR), lysosome-specific components are sorted from autolysosomes to form the primary lysosomes. Autophagy is a highly conserved lysosome-dependent degradation pathway in eukaryotic cells. During autophagy, intracellular materials including protein aggregates and damaged organelles are engulfed by double-membraned vesicles called autophagosomes, which then fuses with lysosome (forming autolysosome) to degrade the substrates.

图1 内吞体/溶酶体系统与自噬(根据参考文献[5]修改)

Fig.1 The endosome/lysosome system and autophagy (modified from reference [5])

类调控自噬起始的重要信号分子。在营养充足的条件下, 激活的mTORC1通过磷酸化调控自噬起始的关键蛋白UNC-51样激酶1(UNC-51-like kinase 1, ULK1)和自噬相关蛋白13(autophagy-related protein 13, ATG13), 抑制自噬体的形成。相反, 营养不足的情况下, 激活的AMPK通过磷酸化ULK1和ATG13上的其他的氨基酸残基, 促进自噬体的形成<sup>[23]</sup>。营养不足的情况下, 细胞通过启动自噬, 将细胞质内的蛋白等成分运送到溶酶体进行降解, 生成氨基酸等新的小分子营养物质, 从而维持细胞内环境的稳定。此外, 自噬也是细胞内重要的质量控制系统和防御系统, 细胞内的蛋白聚集体、受损的细胞器和入侵的病原菌都可以通过自噬途径进行清除<sup>[18]</sup>。

自噬相关的研究主要集中在自噬体的形成和成熟方面, 而对于自噬体与溶酶体的融合过程则关注不多。自噬体与溶酶体的融合过程非常复杂并且受到精确的调控<sup>[24]</sup>。目前所知的参与自噬体与溶酶体融合过程的分子主要包括三类: 小GTP酶Rab分子、tethering分子和可溶性N-乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体(soluble N-ethyl-maleimide sensitive factor attachment protein receptor, SNARE)分子<sup>[25]</sup>。Rab家族的Ras相关蛋白7(Rab7)在自噬起始、自噬体成熟和自噬体与溶酶体融合过程中均发挥作用。Rab7在自噬体与溶酶体融合过程中的作用主要通过下游的效应蛋白EPG5(ectopic P granules protein 5)完成, EPG5通过与溶酶体定位的Rab7和囊泡相关膜蛋白8(vesicle-associated membrane protein 8, VAMP8)以及自噬体定位的微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated protein 1 light chain3, LC3)和突触融合蛋白17(syntaxin 17, STX17)相互作用, 促进自噬体与溶酶体的融合<sup>[26]</sup>。哺乳动物细胞中的Qa-SNARE STX17可以被招募到成熟的自噬体上, 与Qbc-SNARE SNAP29结合, 再与溶酶体定位的R-SNARE VAMP8相互作用形成三元复合物, 介导自噬体与溶酶体的融合<sup>[27]</sup>。Tethering分子能够将不同的膜结构稳定地拴在一起, 为膜的特异性融合提供了额外的保障, 而且将两个膜拉近能够进一步刺激SNARE复合物的形成<sup>[25]</sup>。除了在内吞体运输途径中发挥重要的作用, tethering分子HOPS(homotypic fusion and vacuole protein sorting)复合物在自噬体与溶酶体融合中也发挥作用, HOPS复合物通过与STX17相互作用, 促进STX17-SNAP29-VAMP8三元复合物

的形成, 提高自噬体与溶酶体的融合效率<sup>[28]</sup>。此外, PLEKHM1(pleckstrin homology domain containing protein family M member 1)可能充当联系自噬体和溶酶体的桥梁, PLEKHM1通过与自噬体外膜上的LC3以及溶酶体膜上的HOPS复合物相互作用将二者拴在一起<sup>[29]</sup>。自噬相关蛋白14(autophagy-related protein 14, ATG14)可能也发挥着类似PLEKHM1的作用, ATG14通过与自噬体外膜上的SNARE分子STX17以及SNAP29相互作用, 促进STX17和SNAP29与溶酶体膜上的SNARE分子VAMP8相互作用, 从而促进自噬体与溶酶体的融合<sup>[30]</sup>。

STX17通常定位于内质网上, 当自噬体形成完全闭合的双层膜囊泡后, STX17由内质网转位到自噬体的外膜上<sup>[27]</sup>。然而, STX17如何区分完全封闭的自噬体和未闭合的自噬体仍不清楚。最近的一项研究发现, 自噬体与溶酶体的融合过程受到细胞内代谢状态的调控。在葡萄糖充足的条件下, O-连接N-乙酰氨基葡萄糖转移酶(O-linked N-acetylglucosamine transferase, OGT)通过催化SNAP29糖基化, 抑制其与STX17以及VAMP8形成三元复合物。葡萄糖缺乏则会导致SNAP29糖基化水平下降, 促进其与STX17以及VAMP8形成三元复合物, 从而促进自噬体与溶酶体的融合<sup>[31]</sup>。以上研究表明, 营养信号不仅参与调控自噬体的形成, 也参与调控自噬体与溶酶体的融合。

#### 1.4 溶酶体与细胞膜的修复

细胞质膜破损时, 细胞外高浓度的钙离子迅速通过细胞质膜上破碎的孔洞进入细胞质中, 导致细胞内钙离子浓度升高<sup>[32-33]</sup>。细胞质膜的修复过程需要钙离子的参与, 而钙离子诱导的胞吐过程一直被认为可能在细胞质膜的修复过程中发挥作用<sup>[33]</sup>。近年来的研究发现, 由破损细胞质膜进入细胞质中的钙离子会触发溶酶体的胞吐作用, 携带溶酶体膜的囊泡通过与破损的细胞质膜融合, 堵塞细胞质膜表面破损的孔洞, 从而恢复细胞质膜的完整性<sup>[32]</sup>。

## 2 溶酶体与信号转导

### 2.1 溶酶体与mTORC1的活性调控

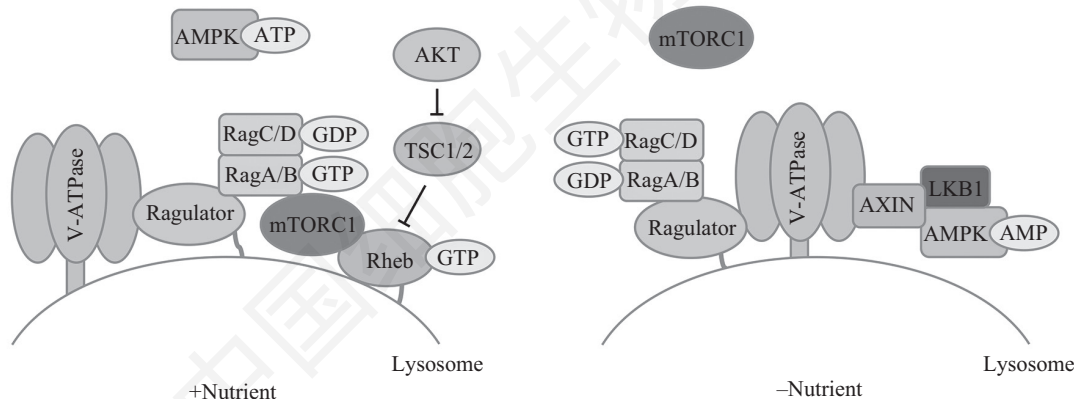
mTOR与不同的蛋白亚基结合可以组成两种不同的蛋白激酶复合物mTORC1和mTORC2<sup>[34]</sup>。mTORC1主要响应细胞内的营养物质和生长因子, 参与调控蛋白翻译、脂质合成、自噬等生物

学过程<sup>[34]</sup>。mTORC1的溶酶体定位是其激活的前提条件,因此调控mTORC1的溶酶体定位是调控mTORC1活性的主要方式之一<sup>[35]</sup>。在生长因子刺激的时候,小GTP酶Rheb的GTP酶激活蛋白(GTPase activating protein, GAP)TSC1-TSC2-TBC1D7复合物被上游的蛋白激酶AKT/PKB磷酸化,导致其与Rheb解离,Rheb由失活的GDP结合形式转化成激活的GTP结合形式,定位于溶酶体膜的GTP结合形式的Rheb,通过与mTORC1相互作用将其招募至溶酶体<sup>[36]</sup>。在氨基酸刺激的时候,mTORC1主要由V-ATPase-Ragulator-Rag复合物招募至溶酶体<sup>[34]</sup>。Rag蛋白是一类与Rheb不同的小GTP酶,其成员包括RagA、Rag B、RagC和RagD<sup>[37]</sup>。而Ragulator则由LAMTOR1(ragulator complex protein LAMTOR1)至LAMTOR5五个亚基组成,Ragulator不仅将Rag蛋白锚定到溶酶体上,而且作为它们的鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)发挥作用<sup>[35,37]</sup>。但是Ragulator的鸟嘌呤核苷酸交换因

子活性只对RagA和RagB起作用<sup>[38]</sup>。液泡膜-ATP酶(vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase, V-ATPase)能够感受细胞内的营养和能量水平,激活Ragulator的GEF活性,激活的Ragulator通过催化RagA/RagB由失活的GDP结合形式转化为激活的GTP结合形式,促进Rag蛋白复合物与mTORC1的相互作用,从而将mTORC1招募至溶酶体膜<sup>[39]</sup>(图2)。

## 2.2 溶酶体与AMPK的活性调控

除了mTORC1,蛋白激酶AMPK同样可以在溶酶体膜上被激活<sup>[39]</sup>。AMPK是由三个蛋白亚基组成的蛋白激酶复合物,是细胞内主要的能量感受器。细胞内能量充足的时候,ATP通过与AMPK结合抑制其活性;当能量不足的时候,细胞内ATP减少,AMP增加,AMP通过与AMPK结合激活其活性。而且,AMP与AMPK的结合能够促进AMPK上游蛋白激酶LKB1(liver kinase B1)对催化亚基AMPK $\alpha$ 的172位苏氨酸残基进行磷酸化,进一步促进AMPK的激活<sup>[39-40]</sup>。研究表明,LKB1主要在溶酶体膜处激活



在营养丰富的条件下,氨基酸信号促使溶酶体表面的RagA/B与GTP结合,RagC/D与GDP结合,二者形成的Rag GTPase异源复合物将mTORC1招募到溶酶体表面。此外,生长因子信号能够激活AKT通路,导致TSC1/2活性受到抑制,Rheb由失活的GDP结合状态转化为激活的GTP结合状态,从而直接激活溶酶体上的mTORC1(左)。而在营养缺乏的条件下,RagA/B由GTP结合形式转化为GDP结合形式,RagC/D则由GDP结合形式转化为GTP结合形式,二者形成的Rag GTPase复合物失去了招募mTORC1至溶酶体的能力。此外,生长因子缺乏导致AKT失活,Rheb由激活的GTP结合状态转化为失活的GDP结合状态,丧失了激活mTORC1的能力。除了mTORC1,近年来的研究发现细胞内的能量感受器AMPK也是在溶酶体表面激活。在营养缺乏的条件下,一方面,溶酶体表面的V-ATPase-Ragulator复合物与AXIN结合,从而将与AXIN相互作用的LKB1招募到溶酶体;另一方面,营养缺乏导致细胞内的AMP水平上升,AMP结合的AMPK对LKB1-AXIN复合物的亲和力随之增加,AMPK从而被溶酶体表面的LKB1直接激活(右)。

Under nutrient rich conditions, amino acids enable Ragulator to bind RagA/B with GTP and RagC/D with GDP, this Rag GTPase heterodimer is competent to recruit mTORC1 to the lysosomal surface. On the other hand, growth factors stimulate the activation of AKT, leading to TSC1/2 inhibition and switching Rheb from the GDP-bound to the GTP-bound state, which directly activates mTORC1 on the lysosomal surface (left). Upon nutrient deprivation, RagA/B is converted from GTP-bound to GDP-bound state and RagC/D is converted from GDP-bound to GTP-bound state, which abolishes the binding of this Rag GTPase heterodimer to mTORC1 and dissociates mTORC1 from the lysosomes. Meanwhile, inactivation of AKT leads to Rheb inhibition by converting Rheb from GTP-bound to GDP-bound state. Both two mechanisms lead to mTORC1 inactivation. The energy sensor AMPK is also reported to be activated on lysosomal surface. Nutrient starvation signals the V-ATPase-Ragulator complex to bind AXIN, which then recruits LKB1, an upstream activator of AMPK, to the lysosomal surface. On the other hand, accumulated AMP caused by nutrient deprivation increases the affinity of AMPK for LKB1-AXIN complex, leading to AMPK activation by LKB1 on the lysosomal surface (right).

图2 溶酶体膜处mTORC1和AMPK的活性调控(根据参考文献[39]修改)

Fig.2 Regulation of the activity of mTORC1 and AMPK on lysosomal surface (modified from reference [39])

AMPK。葡萄糖缺乏的时候, 多功能支架蛋白AXIN与失活的V-ATPase以及其结合蛋白Ragulator相互作用, 抑制Ragulator的GEF活性, 造成mTORC1从溶酶体膜上解离, 而AXIN通过与LKB1相互作用将LKB1招募至溶酶体<sup>[39]</sup>。此外, 葡萄糖缺乏造成AMP累积, 结合AMP的AMPK和LKB1的相互作用显著增强, AMPK通过与LKB1-AXIN复合物相互作用被招募至溶酶体膜, 从而被溶酶体定位的LKB1激活<sup>[39]</sup>(图2)。

### 2.3 mTORC1与TFEB的相互调控

TFEB作为调控溶酶体发生的主要转录因子, 其活性调控主要通过改变其核质分布实现。在营养丰富的条件下, TFEB在细胞核和细胞质中均有分布; 而在营养剥夺的条件下, TFEB在细胞核内大量累积<sup>[41]</sup>。后续的研究发现, 蛋白激酶mTORC1是调控TFEB核质分布的主要蛋白。营养丰富的条件下, TFEB可通过与溶酶体处激活的Rag GTPase相互作用定位于溶酶体, 进而与溶酶体表面的mTORC1相互作用并被mTORC1直接磷酸化, 磷酸化的TFEB通过与细胞质定位的14-3-3蛋白结合, 从而滞留于细胞质中<sup>[41-42]</sup>。MiT/TFE蛋白家族的其他成员也受到mTORC1类似的调控作用<sup>[42]</sup>。

近年来的研究发现, TFEB也可以反过来调控mTORC1的活性, TFEB通过结合RagD GTPase基因启动子区的CLEAR元件, 特异性促进RagD GTPase的基因转录, 从而激活mTORC1<sup>[43]</sup>。

## 3 溶酶体与细胞代谢

### 3.1 溶酶体与糖原代谢

糖原既可以在细胞质中也可以在溶酶体内进行分解<sup>[44]</sup>。溶酶体内降解的糖原很可能是以自噬途径运送到溶酶体内。STBD1(starch binding domain-containing protein 1)通过与细胞质内的糖原以及自噬体上的GABARAPL1(gamma-aminobutyric acid receptor-associated protein-like 1)相互作用, 将糖原带到自噬体中<sup>[45]</sup>, 自噬体通过与溶酶体融合降解糖原。糖原在溶酶体内主要由酸性 $\alpha$ -1,4-糖苷酶、1-4- $\alpha$ 葡聚糖水解酶和酸性麦芽糖酶负责降解, 最终转化为葡萄糖<sup>[44]</sup>。以上糖类水解酶在内质网中合成后, 通过高尔基体介导的分选过程运送到溶酶体内, 经过适当的剪切才能成为有活性水解酶。溶酶体介导的糖原降解如果出现障碍则会导致糖原在溶酶体内

异常累积, 引发溶酶体贮积症<sup>[5,44]</sup>。

### 3.2 溶酶体与脂代谢

细胞外的LDL(low-density lipoprotein)颗粒结合细胞膜上的LDL受体, 然后由网格蛋白介导的内吞作用进入细胞质中。网格蛋白解离后, LDL-LDL受体复合物被包裹进入内吞体。随着内吞体的不断酸化, LDL受体和LDL解离, LDL受体通过内吞体-细胞膜的分选途径重新回到细胞膜表面。内吞体成熟为溶酶体后, LDL颗粒在溶酶体内酸性脂肪酶的作用下释放出胆固醇和甘油三酯等脂质分子<sup>[46]</sup>。

细胞内的脂质也可以通过自噬途径进入溶酶体。细胞内的脂滴可以被自噬体包裹起来, 运送至溶酶体, 这一过程称为脂自噬(lipophagy)<sup>[47]</sup>。脂滴内大量的中性脂肪酸也由此进入溶酶体, 在脂肪酶的作用下分解为自由脂肪酸。脂自噬可能是应激条件下帮助细胞获取脂肪酸的重要途径。然而, 自噬体识别脂滴的分子机制目前还不清楚。溶酶体内的脂质分子也可以由溶酶体转运进其他的细胞器内, 溶酶体可以与过氧化物酶体或者内质网等细胞器直接接触, 当二者的膜结构足够接近时, 脂质分子则可以直接由溶酶体进入下一个细胞器内<sup>[48]</sup>。胆固醇可以通过细胞器之间的接触由溶酶体进入过氧化物酶体以及内质网<sup>[48]</sup>, 至于其他种类的脂质是否也可以利用这种方式进入细胞内的其他细胞器内还有待研究。

### 3.3 溶酶体和铁代谢

铁元素很容易在氧化态和还原态之间进行循环, 并且容易与氧元素形成络合物, 因此铁元素在细胞内的氧化还原反应中发挥重要作用<sup>[49]</sup>。游离状态的铁离子具有极其强大的氧化还原活性, 容易造成细胞成分的破坏, 从而导致细胞死亡, 这一细胞死亡方式称为铁死亡(ferroptosis)<sup>[50]</sup>。为了防止铁离子的泄漏, 从环境中摄取的铁元素一般需要通过专门的铁转运机制进行运输。在有核的细胞中, 铁元素不断地从老化的富含铁的细胞器(如线粒体)中回收, 用于构建新的细胞器<sup>[49]</sup>。铁的这种循环方式主要由溶酶体介导完成。很多通过自噬途径运送到溶酶体进行降解的蛋白或者细胞器都含有一定的铁元素, 降解后会释放出少量有氧化还原活性的游离铁元素。如果这类含铁的蛋白或者细胞器在溶酶体内的降解量增加, 则会破坏溶酶体膜, 甚至引起细胞死亡<sup>[50]</sup>。溶酶体主要通过控制细胞内的铁代谢, 参与调控细

胞的氧化应激反应。

## 4 溶酶体与疾病

### 4.1 溶酶体与神经退行性疾病

神经系统的再生能力极为有限,因此其稳态维持非常依赖细胞内的质量控制系统。作为细胞内重要的废物清理中心,溶酶体对于神经系统的稳态维持非常重要。由某些关键的溶酶体酶的基因突变引起的单基因遗传病,称作溶酶体贮积症,目前发现的溶酶体贮积症大约有60种<sup>[5,51]</sup>,其中很多与严重的神经退行性疾病相关。

溶酶体表面输出胆固醇的转运蛋白NPC1(NPC intracellular cholesterol transporter 1)和NPC2功能缺陷导致胆固醇在溶酶体内大量贮积从而引起的C型尼曼氏病(Niemann-Pick type C, NPC)。患者常表现出进行性小脑共济失调的症状,并且患者脑组织后续还会呈现出阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)的特征,包括神经纤维缠结和 $\beta$ 样淀粉样蛋白的堆积<sup>[52]</sup>。由于溶酶体内的 $\beta$ -葡糖脑苷酶( $\beta$ -glucocerebrosidase, GBA)功能缺陷导致葡萄糖神经酰胺大量积累并引起的戈谢病(Gaucher disease, GD),患者常表现出多个器官的功能障碍,特别是脾脏、骨骼肌和造血系统的功能障碍,一部分患者最终会发展为帕金森病(Parkinson's disease, PD);此外,携带GBA杂合突变的个体虽然没有罹患戈谢病,但其患帕金森病的风险也远远高于普通人<sup>[53]</sup>。

此外,TFEB的表达水平下降或者细胞核分布减少导致溶酶体发生抑制和自噬功能缺陷,是引发部分原发性阿尔茨海默症、帕金森病和亨廷顿舞蹈症(Huntington's disease, HD)等神经退行性疾病的重要原因之一<sup>[54]</sup>。而在体外神经退行性疾病细胞模型中,仅高表达TFEB就足以显著减少Tau蛋白和 $\beta$ 样淀粉样蛋白等致病蛋白<sup>[54]</sup>,提示通过提高TFEB的活性,促进溶酶体发生和自噬,可能有助于缓解甚至治疗部分原发性神经退行性疾病。

### 4.2 溶酶体与肿瘤

当肿瘤所处的局部环境中营养不足时,肿瘤细胞主要通过快速地循环利用细胞内的组分,满足细胞的生长增殖需要<sup>[55]</sup>。无论是自噬还是巨胞饮作用,最终都需要通过溶酶体完成最后的物质降解,因此溶酶体的功能对于肿瘤的生长增殖非常重要<sup>[5]</sup>。

在癌基因KRAS发生突变的肿瘤细胞中,巨胞饮

作用是细胞摄取细胞外营养物质的重要途径。研究发现,胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDA)细胞可以通过巨胞饮作用直接摄取细胞外的白蛋白,然后运送至溶酶体进行降解,从而获取大量的游离氨基酸,为肿瘤的生长提供原材料<sup>[56]</sup>。此外,自噬的激活以及溶酶体功能的上调与胰腺癌的高侵袭性密切相关。胰腺导管腺癌组织中, MiT/TFE蛋白的表达水平显著上调,自噬水平和溶酶体发生也随之增强。MiT/TFE蛋白驱动的分解代谢对于胰腺导管腺癌维持细胞内高水平的氨基酸含量以及蛋白合成能力至关重要<sup>[57]</sup>。除了胰腺癌, MiT/TFE蛋白对于很多其他类型肿瘤的生长、增殖、转移和拮抗化疗等都非常重要<sup>[58]</sup>,提示溶酶体可能也在以上过程中发挥重要作用。

## 5 问题与展望

溶酶体除了参与细胞内代谢废物的降解,在营养物质的感应、转运和信号转导过程中同样发挥重要作用。目前的研究主要集中在溶酶体在细胞层面的功能,在个体层面溶酶体如何影响机体的生理功能则知之甚少。从酵母到哺乳动物,抑制mTORC1的活性都会显著延缓个体的衰老,延长个体的寿命。最近在线虫中的研究发现,TFEB活性的上调是抑制mTORC1活性引起个体寿命延长的重要因素<sup>[59]</sup>,表明溶酶体可能在个体衰老过程中发挥重要作用。衰老如何引起溶酶体功能的改变,对于个体代谢以及相关疾病有怎样的影响则有待于未来研究。随着高通量蛋白质组学技术的发展,越来越多的溶酶体蛋白被发现<sup>[60]</sup>,这些新蛋白如何影响溶酶体的功能,是否存在组织或者器官特异性的溶酶体蛋白以及溶酶体,也是未来一个重要的研究方向。在酵母和哺乳动物细胞中,溶酶体可以通过与过氧化物酶体直接接触进行脂质的转运<sup>[48]</sup>,与线粒体直接接触调控线粒体的分裂<sup>[61]</sup>,提示溶酶体与其他细胞器进行直接接触可能是溶酶体与其他细胞器进行物质交换和信息传递的重要途径。

## 参考文献 (References)

- 1 de Duve C. The lysosome turns fifty. *Nat Cell Biol* 2005; 7(9): 847-9.
- 2 Di Fiore PP, von Zastrow M. Endocytosis, signaling, and beyond. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014; 6(8): a016865.
- 3 Zhang C, Cuervo AM. Restoration of chaperone-mediated

- autophagy in aging liver improves cellular maintenance and hepatic function. *Nat Med* 2008; 14(9): 959-65.
- 4 Piao S, Amaravadi RK. Targeting the lysosome in cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2016; 1371(1): 45-54.
- 5 Perera RM, Zoncu R. The lysosome as a regulatory hub. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2016; 32: 223-53.
- 6 Novikoff AB, Beaufay H, De Duve C. Electron microscopy of lysosomeric fractions from rat liver. *J Biophys Biochem Cytol* 1956; 2(4 Suppl): 179-84.
- 7 Saftig P, Klumperman J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: Trafficking meets function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(9): 623-35.
- 8 Chapel A, Kieffer-Jaquinod S, Sagne C, Verdon Q, Ivaldi C, Mellal M, *et al.* An extended proteome map of the lysosomal membrane reveals novel potential transporters. *Mol Cell Proteomics* 2013; 12(6): 1572-88.
- 9 Rink J, Ghigo E, Kalaidzidis Y, Zerial M. Rab conversion as a mechanism of progression from early to late endosomes. *Cell* 2005; 122(5): 735-49.
- 10 Katzmann DJ, Odorizzi G, Emr SD. Receptor downregulation and multivesicular-body sorting. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3(12): 893-905.
- 11 Hsu VW, Prekeris R. Transport at the recycling endosome. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(4): 528-34.
- 12 Chen Y, Yu L. Recent progress in autophagic lysosome reformation. *Traffic* 2017; 18(6): 358-61.
- 13 Li X, Rydzewski N, Hider A, Zhang X, Yang J, Wang W, *et al.* A molecular mechanism to regulate lysosome motility for lysosome positioning and tubulation. *Nat Cell Biol* 2016; 18(4): 404-17.
- 14 Sardiello M, Palmieri M, di Ronza A, Medina DL, Valenza M, Gennarino VA, *et al.* A gene network regulating lysosomal biogenesis and function. *Science* 2009; 325(5939): 473-7.
- 15 Palmieri M, Impey S, Kang H, di Ronza A, Pelz C, Sardiello M, *et al.* Characterization of the clear network reveals an integrated control of cellular clearance pathways. *Hum Mol Genet* 2011; 20(19): 3852-66.
- 16 Settembre C, Di Malta C, Polito VA, Garcia Arencibia M, Vetrini F, Erdin S, *et al.* TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. *Science* 2011; 332(6036): 1429-33.
- 17 Settembre C, De Cegli R, Mansueto G, Saha PK, Vetrini F, Visvikis O, *et al.* TFEB controls cellular lipid metabolism through a starvation-induced autoregulatory loop. *Nat Cell Biol* 2013; 15(6): 647-58.
- 18 Mizushima N. Autophagy: Process and function. *Genes Dev* 2007; 21(22): 2861-73.
- 19 Kaushik S, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: A unique way to enter the lysosome world. *Trends Cell Biol* 2012; 22(8): 407-17.
- 20 Dubouloz F, Deloche O, Wanke V, Camerani E, De Virgilio C. The tor and ego protein complexes orchestrate microautophagy in yeast. *Mol Cell* 2005; 19(1): 15-26.
- 21 Sahu R, Kaushik S, Clement CC, Cannizzo ES, Scharf B, Follenzi A, *et al.* Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes. *Dev Cell* 2011; 20(1): 131-9.
- 22 Wan W, You Z, Xu Y, Zhou L, Guan Z, Peng C, *et al.* mTORC1 phosphorylates acetyltransferase p300 to regulate autophagy and lipogenesis. *Mol Cell* 2017; 68(2): 323-35.
- 23 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.
- 24 Shen HM, Mizushima N. At the end of the autophagic road: An emerging understanding of lysosomal functions in autophagy. *Trends Biochem Sci* 2014; 39(2): 61-71.
- 25 Nakamura S, Yoshimori T. New insights into autophagosome-lysosome fusion. *J Cell Sci* 2017; 130(7): 1209-16.
- 26 Wang Z, Miao GY, Xue X, Guo XY, Yuan CZ, Wang ZY, *et al.* The Vici syndrome protein EPG5 is a Rab7 effector that determines the fusion specificity of autophagosomes with late endosomes/lysosomes. *Mol Cell* 2016; 63(5): 781-95.
- 27 Itakura E, Kishi-Itakura C, Mizushima N. The hairpin-type tail-anchored snare syntaxin 17 targets to autophagosomes for fusion with endosomes/lysosomes. *Cell* 2012; 151(6): 1256-69.
- 28 Jiang P, Nishimura T, Sakamaki Y, Itakura E, Hatta T, Natsume T *et al.* The HOPS complex mediates autophagosome-lysosome fusion through interaction with syntaxin 17. *Mol Biol Cell* 2014; 25(8): 1327-37.
- 29 McEwan DG, Popovic D, Gubas A, Terawaki S, Suzuki H, Stadel D, *et al.* Plekhm1 regulates autophagosome-lysosome fusion through hops complex and lc3/gabarap proteins. *Mol Cell* 2015; 57(1): 39-54.
- 30 Diao J, Liu R, Rong Y, Zhao M, Zhang J, Lai Y, *et al.* Atg14 promotes membrane tethering and fusion of autophagosomes to endolysosomes. *Nature* 2015; 520(7548): 563-6.
- 31 Guo B, Liang Q, Li L, Hu Z, Wu F, Zhang P, *et al.* O-glcna modification of snap-29 regulates autophagosome maturation. *Nat Cell Biol* 2014; 16(12): 1215-26.
- 32 Cheng X, Zhang X, Gao Q, Ali Samie M, Azar M, Tsang WL, *et al.* The intracellular Ca<sup>2+</sup> channel mcoln1 is required for sarcolemma repair to prevent muscular dystrophy. *Nat Med* 2014; 20(10): 1187-92.
- 33 Gerasimenko JV, Gerasimenko OV, Petersen OH. Membrane repair: Ca<sup>2+</sup>-elicited lysosomal exocytosis. *Curr Biol* 2001; 11(23): R971-4.
- 34 Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell* 2012; 149(2): 274-93.
- 35 Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R, Markhard AL, Nada S, Sabatini DM. Ragulator-rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell* 2010; 141(2): 290-303.
- 36 Menon S, Dibble CC, Talbott G, Hoxhaj G, Valvezan AJ, Takahashi H, *et al.* Spatial control of the tsc complex integrates insulin and nutrient regulation of mTORC1 at the lysosome. *Cell* 2014; 156(4): 771-85.
- 37 Sancak Y, Peterson TR, Shaul YD, Lindquist RA, Thoreen CC, Bar-Peled L, *et al.* The rag gtpases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science* 2008; 320(5882): 1496-501.
- 38 Bar-Peled L, Schweitzer LD, Zoncu R, Sabatini DM. Ragulator is a gef for the rag gtpases that signal amino acid levels to mTORC1. *Cell* 2012; 150(6): 1196-208.
- 39 Zhang CS, Jiang B, Li M, Zhu M, Peng Y, Zhang YL, *et al.* The lysosomal v-atpase-ragulator complex is a common activator for ampk and mTORC1, acting as a switch between catabolism and anabolism. *Cell Metab* 2014; 20(3): 526-40.
- 40 Gowans GJ, Hawley SA, Ross FA, Hardie DG. Amp is a true



- physiological regulator of amp-activated protein kinase by both allosteric activation and enhancing net phosphorylation. *Cell Metab* 2013; 18(4): 556-66.
- 41 Settembre C, Zoncu R, Medina DL, Vetrini F, Erdin S, Erdin S, *et al.* A lysosome-to-nucleus signalling mechanism senses and regulates the lysosome via mTOR and TFEB. *EMBO J* 2012; 31(5): 1095-108.
- 42 Martina JA, Puertollano R. Rag GTPases mediate amino acid-dependent recruitment of TFEB and MITF to lysosomes. *J Cell Biol* 2013; 200(4): 475-91.
- 43 Di Malta C, Siciliano D, Calcagni A, Monfregola J, Punzi S, Pastore N, *et al.* Transcriptional activation of RagD GTPase controls mTORC1 and promotes cancer growth. *Science* 2017; 356(6343): 1188-92.
- 44 Adeva-Andany MM, Gonzalez-Lucan M, Donapetry-Garcia C, Fernández-Fernández C, Ameneiros-Rodríguez E. Glycogen metabolism in humans. *BBA Clin* 2016; 5: 85-100.
- 45 Sun T, Yi H, Yang C, Kishnani PS, Sun B. Starch binding domain-containing protein 1 plays a dominant role in glycogen transport to lysosomes in liver. *J Biol Chem* 2016; 291(32): 16479-84.
- 46 Chang TY, Chang CC, Ohgami N, Yamauchi Y. Cholesterol sensing, trafficking, and esterification. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2006; 22: 129-57.
- 47 Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature* 2009; 458(7242): 1131-5.
- 48 Chu BB, Liao YC, Qi W, Xie C, Du X, Wang J, *et al.* Cholesterol transport through lysosome-peroxisome membrane contacts. *Cell* 2015; 161(2): 291-306.
- 49 Kurz T, Terman A, Gustafsson B, Brunk UT. Lysosomes in iron metabolism, ageing and apoptosis. *Histochem Cell Biol* 2008; 129(4): 389-406.
- 50 Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, *et al.* Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell* 2012; 149(5): 1060-72.
- 51 Cox TM, Cachon-Gonzalez MB. The cellular pathology of lysosomal diseases. *J Pathol* 2012; 226(2): 241-54.
- 52 Kwon HJ, Abi-Mosleh L, Wang ML, Deisenhofer J, Goldstein JL, Brown MS, *et al.* Structure of n-terminal domain of npc1 reveals distinct subdomains for binding and transfer of cholesterol. *Cell* 2009; 137(7): 1213-24.
- 53 Bultron G, Kacena K, Pearson D, Boxer M, Yang R, Sathe S, *et al.* The risk of parkinson's disease in type 1 gaucher disease. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33(2): 167-73.
- 54 Raben N, Puertollano R. TFEB and TFE3: Linking lysosomes to cellular adaptation to stress. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2016; 32: 255-278.
- 55 Galluzzi L, Pietrocola F, Bravo-San Pedro JM, Amaravadi RK, Baehrecke EH, Cecconi F, *et al.* Autophagy in malignant transformation and cancer progression. *EMBO J* 2015; 34(7): 856-80.
- 56 Palm W, Park Y, Wright K, Pavlova NN, Tuveson DA, Thompson CB, *et al.* The utilization of extracellular proteins as nutrients is suppressed by mTORC1. *Cell* 2015; 162(2): 259-70.
- 57 Perera RM, Stoykova S, Nicolay BN, Ross KN, Fitamant J, Boukhali M, *et al.* Transcriptional control of autophagy-lysosome function drives pancreatic cancer metabolism. *Nature* 2015; 524(7565): 361-5.
- 58 Kauffman EC, Ricketts CJ, Rais-Bahrami S, Yang Y, Merino MJ, Bottaro DP, *et al.* Molecular genetics and cellular features of TFE3 and TFEB fusion kidney cancers. *Nat Rev Urol* 2014; 11(8): 465-75.
- 59 Lapierre LR, Kumsta C, Sandri M, Ballabio A, Hansen M. Transcriptional and epigenetic regulation of autophagy in aging. *Autophagy* 2015; 11(6): 867-80.
- 60 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.
- 61 Wong YC, Ysselstein D, Krainc D. Mitochondria-lysosome contacts regulate mitochondrial fission via rab7 gtp hydrolysis. *Nature* 2018; 554(7692): 382-6.