



张晓妍博士, 现任华中农业大学生物医学与健康学院教授。主要研究领域: 哺乳动物细胞高尔基体结构与功能调控、糖基化修饰调控和高尔基体应激反应。期望能揭示高尔基体在生理、应激和病理条件下的结构与功能调控机制, 与其他内膜系统的互作机制以及与人类相关疾病的关系。研究论文在*Nat Commun*、*Dev Cell*、*Autophagy*、*Trends Biochem Sci*等刊物上发表。

<https://biomed.hzau.edu.cn/info/1023/1041.htm>

哺乳动物高尔基体的结构特点与功能

邢雨生[#] 简彦楠[#] 张晓妍^{*}

(华中农业大学, 生物医学与健康学院, 武汉 430070)

摘要 在动物细胞中, 高尔基体是内膜系统的物质运输中心, 负责蛋白质和脂质的加工、修饰和分选, 有序的高尔基体结构是维护其精确功能的基础。该文总结了哺乳动物细胞高尔基体独特堆叠和带状结构的分子基础, 具体阐述了高尔基体结构在蛋白质糖基化修饰和分选中的作用, 分析了高尔基体结构和功能紊乱与疾病之间的联系, 并对近期热点研究的高尔基体参与的其他生理功能进行了介绍, 为更深入地了解生理和病理条件下的高尔基体结构与功能提供了参考。

关键词 高尔基体; 糖基化修饰; 癌症; 细胞自噬; 非常规型蛋白分泌

Structure and Function of Golgi in Mammalian Cells

XING Yusheng[#], JIAN Yannan[#], ZHANG Xiaoyan^{*}

(College of Biomedicine and Health, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract In animal cells, the Golgi apparatus is the center of cargo transport in the endomembrane system, responsible for processing, modification and sorting of proteins and lipids. The orderly Golgi structure is the basis for maintaining its precise function. This article summarizes the molecular mechanisms of maintaining the unique stacking and ribbon-like structure of Golgi apparatus in mammalian cells, specifically elaborates on the role of Golgi structure in protein glycosylation modification and sorting, analyzes the correlation between Golgi structure and functional disorders and diseases, and introduces other physiological functions in which the Golgi is involved, based on recent hot research topics. This article provides a reference for a deeper understanding of the structure and function of Golgi apparatus under physiological and pathological conditions.

Keywords Golgi apparatus; glycosylation modification; cancer; cell autophagy; unconventional protein secretion

收稿日期: 2023-10-29 接受日期: 2023-12-12

国家自然科学基金(批准号: 32070693)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通信作者。Tel: 15608629237, E-mail: xiaoyanz@mail.hzau.edu.cn

Received: October 29, 2023 Accepted: December 12, 2023

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32070693)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding author. Tel: +86-15608629237, E-mail: xiaoyanz@mail.hzau.edu.cn

高尔基体(Golgi apparatus)是真核细胞内膜运输系统中的细胞器之一。1898年,意大利医生Camillo GOLGI用银盐浸染法在猫头鹰神经细胞内观察到了一种新奇的网状结构,后来该结构在多种细胞中相继被发现,并被称为高尔基体^[1]。虽然高尔基体距发现至今已经有120多年的历史,但细胞学家在很长一段时间内都在对该结构是否真实存在进行了激烈的争论,直到20世纪50年代电子显微镜的应用确证了高尔基体是一种独立的膜状细胞器。现今已知,高尔基体接收来自内质网的蛋白质或脂质,并对这些货物进一步地加工和包装,最终将其分选到不同的目的地,如内体、溶酶体、细胞质膜或细胞外,因此高尔基体与内膜系统细胞器有频繁的物质交流,在细胞分泌途径中处于中心地位。

高尔基体结构高度动态,在不同的细胞时期,或在不同的细胞类型中,其形态都会有差异。高尔基体高度敏感,当细胞受到外界刺激或压力时,其结构功能随之发生改变以维持细胞稳态。因此,高尔基体如何维持和调控其形态结构是重要的科学问题。高尔基体结构和功能的变化与人类疾病密切相关,在多种癌症和神经退行性疾病中均可以观察到高尔基体结构与功能的异常。本文主要介绍哺乳动物高尔基体的结构特征,维持高尔基体独特堆叠和带状结构的分子基础,高尔基体在蛋白运输、加工和分选中的工作机制以及高尔基体与疾病之间的联系。此外,本文还对近期热点研究的高尔基体参与的其他生理功能进行了总结。

1 高尔基体结构

高尔基体是细胞内膜系统中处于中心位置的细胞器。在生物演化过程中,高尔基体由简单分散的单个膜囊结构,演化成独特的膜囊堆叠(Golgi stack),再到动物细胞中复杂的带状结构(Golgi ribbon)。高尔基体完整结构的维持需要包括高尔基体基质蛋白(Golgi matrix)在内的多种高尔基体相关蛋白的参与。此外,高尔基体结构高度动态,在哺乳动物的细胞周期中会经历规律性的分解和重组。本节主要对哺乳动物细胞的高尔基体结构及其维护机制作重点介绍,并讨论高尔基体结构在细胞周期中的动态变化和已知的分子机制。

1.1 哺乳动物细胞中的高尔基体结构

典型的哺乳动物高尔基体由排列较为整齐的

扁平膜囊堆叠而成,其构成高尔基体的特有结构,通常被叫做高尔基体堆叠(Golgi stack),同时膜囊周围存在许多大小不一的膜泡^[2]。高尔基体膜囊的组成并不均一,不同的膜囊含有不同的驻留蛋白。高尔基体因此被人为地分为三部分,即从内质网到细胞膜方向,依次为顺式高尔基体网状结构(Cis-Golgi network, CGN)和高尔基体中间膜囊[medial Golgi; 包括顺式膜囊(cis-cisternae)、中间膜囊(medial-cisternae)、反式膜囊(trans-cisternae)],以及反式高尔基体网状结构(trans-Golgi network, TGN)^[3]。其中CGN接收由内质网合成的货物,包括蛋白质和脂质,随后大部分货物会在高尔基体中间膜囊中被进一步地加工与修饰。在TGN中则主要进行一些晚期的蛋白质和脂质修饰,最终将货物分选到不同的目的地,如内体、溶酶体、细胞膜或细胞外^[4]。

此外,高尔基体膜囊的中间管腔部分通常很窄(10~20 nm),而膜囊边缘会扩张并延伸成小管或管状网络。不同类型的膜泡会从膜囊边缘出芽,并将货物运输到高尔基体内的其他膜囊或内膜系统的其他细胞器。大多数哺乳动物细胞含有多个高尔基体堆叠,这些高尔基体堆叠可侧向连接,在细胞核附近形成带状结构,这种结构被称为Golgi ribbon(图1A)。高尔基体带状结构通常位于微管组织中心(microtubule-organizing center, MTOC)周围,高尔基体结构的维持与微管和肌动蛋白细胞骨架密切相关^[2]。

1.2 不同物种中的高尔基体结构

高尔基体是真核生物中普遍存在的细胞器,但在不同物种中,高尔基体在堆叠数量和形态组织上都有明显差异。在一些单细胞真核生物如弓形虫、布氏锥虫,以及绿藻中的金牛微球藻(*Ostreococcus tauri*)中,每个细胞都只包含一个高尔基体堆叠。而在大部分生物体,包括大部分真菌、植物和无脊椎动物中,每个细胞都含有多个分散在细胞质中的高尔基体堆叠^[5]。其中不同酵母中的高尔基体形态也不同,如裂殖酵母和毕赤酵母虽具有2~5个高尔基体堆叠,但没有形成高尔基体带状结构(图1C)。酿酒酵母的高尔基体膜囊比较分散,通常不会形成堆叠结构^[6](图1D)。研究表明,酵母中高尔基体的形态与分布可能与内质网出口位点(ER exit sites, ERES)的分布以及蛋白运输需求有关^[7]。

模式生物果蝇和秀丽隐杆线虫的高尔基体堆叠也分散在细胞质中^[8]。以果蝇为例,果蝇的高尔基

体堆叠数量相对较多,例如S2细胞中约有20个,通常每个堆叠包含2~3层膜囊,且这些高尔基体堆叠会成对分布在ERES附近^[9](图1B)。与哺乳动物相比,果蝇细胞中的高尔基体在形态和功能上有相似之处。已有研究表明,果蝇中含有多种在哺乳动物中维持高尔基体结构与功能的同源蛋白,如Rab GTPase、SNAREs、高尔基体重组堆叠蛋白(Golgi reassembly stacking proteins, GRASPs)以及包括GM130在内的多种Golgins等^[10],因此果蝇是常用的研究高尔基体的模式生物。

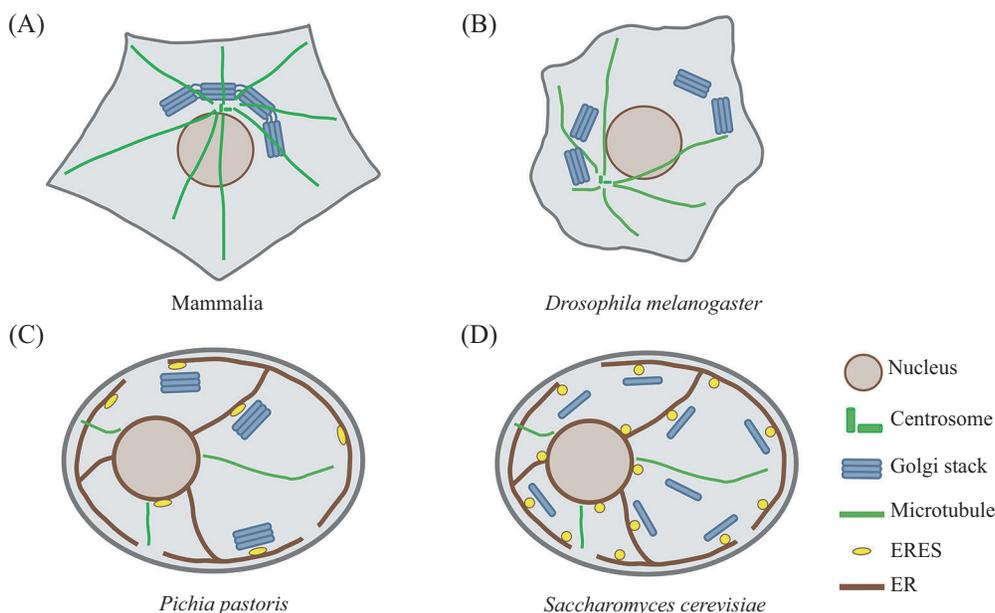
1.3 哺乳动物高尔基体结构维持的分子机制

哺乳动物细胞中高尔基体的堆叠结构和带状结构是其功能发挥的基础。在高尔基体膜的细胞质面存在一些高尔基体基质蛋白,主要包括GRASPs和Golgins等,它们在高尔基体堆叠和带状结构的形成以及周围膜泡的束缚中发挥重要调节作用。本节我们主要介绍这些蛋白在高尔基体结构维持中的分子机制。

1.3.1 GRASPs在高尔基体结构维持中的作用 高尔基体特有的堆叠结构主要由GRASPs维持^[11]。

GRASPs有两种同源蛋白,分别是GRASP65和GRASP55。它们都是外周膜蛋白,主要依赖两个途径附着在高尔基体膜上:一是通过N末端的豆蔻酰化修饰(myristoylation),二是依赖于它们各自的定位在高尔基体上的伴侣蛋白GM130和Golgin-45^[10]。GRASPs具有相似的结构特点,包括:(1) N末端是非常保守的GRASP结构域,由PDZ1和PDZ2两个串联的PDZ结构域构成;(2) C末端是不保守的、无序的、高度可调节的富含丝氨酸/脯氨酸的结构域(serine/proline-rich domain, SPR domain)^[12]。

在动物细胞中,GRASP65主要定位在顺式高尔基体膜囊上,GRASP55则主要定位在中间和反式膜囊上。GRASPs蛋白通过N末端的PDZ结构域形成稳定的同源二聚体,相邻高尔基体膜囊上的GRASP二聚体通过PDZ2-PDZ2之间的相互作用形成反式寡聚体,从而像“拉链”一样将相邻的膜囊“粘”在一起,因此,二者协同作用,共同维持高尔基体的堆叠结构^[4](图2A)。单独敲低GRASP65或GRASP55会造成高尔基体堆叠的膜囊数量减少,而GRASPs的双重敲除会



A: 哺乳动物细胞中高尔基体堆叠结构侧向连接成带状结构。B: 果蝇细胞中高尔基体堆叠一般成对分散在细胞质中。C、D: 不同酵母的高尔基体形态结构不同。在巴斯德毕赤酵母中,高尔基体堆叠分散在细胞质中,位置与ERES有关(C)。在酿酒酵母中,高尔基体没有形成堆叠结构,膜囊分散在细胞质中,定位同样与ERES有关(D)。此外,这些膜囊也可以分为顺式、中间与反式。

A: in mammalian cells, Golgi stacks are often laterally linked into a ribbon-like structure. B: in *Drosophila melanogaster* cells, Golgi stacks are generally dispersed in pairs in the cytoplasm. C, D: different yeast species have different Golgi morphology and structure. In *Pichia pastoris* cells, Golgi stacks are present within the cytoplasm and are closely connected to ERES (C). In *Saccharomyces cerevisiae* cells, Golgi membranes do not form stacks. Instead, individual cisternae are distributed throughout the cytoplasm, and their location is also related to ERES (D). In addition, these membranes can also be classified into *cis*-, *medial*- and *trans*-cisternae.

图1 不同物种细胞中的高尔基体结构

Fig.1 Golgi organization in different organisms

导致堆叠进一步分散,成为单个膜囊和管状结构,这些研究表明GRASPs在高尔基体堆叠结构维持中发挥作用^[11]。

GRASPs在高尔基体带状结构的形成以及维持方面也发挥关键作用。GRASP65可将Mena(mammalian enabled),一种肌动蛋白延伸因子,招募至高尔基体膜囊边缘,促进肌动蛋白丝的伸长,随后肌动蛋白纤维和Mena促进GRASP65形成反式寡聚体,从而将相邻的高尔基体堆叠拉向彼此并连接成带状结构^[13]。此外,GRASP65 C末端的SPR结构域还可以与DjA1(DnaJ homolog subfamily A member 1)结合,二者的结合增强了GRASP65反式寡聚体的形成并在高尔基体堆叠和带状结构的维持中发挥作用^[14]。目前尚不清楚GRASP55是否以类似的机制在高尔基体带状结构维持中发挥功能。但有研究表明GRASP65或GRASP55的急性缺失均会破坏高尔基体的带状结构^[15]。

GRASPs虽然是目前研究较为清楚的在高尔基体堆叠中起重要作用的蛋白,但不排除有其他结构蛋白参与的可能性。目前仅有GRASPs的N末端结构域的晶体结构,且全长的GRASPs如何参与调控高尔基体结构还处于推测阶段。因此,未来可通过探究更多GRASPs的结合蛋白,结合原位结构生物学共同解析高尔基体堆叠结构的形成和维护机制。

1.3.2 Golgins在高尔基体结构维持中的作用 高尔基体是参与膜泡运输的膜性细胞器,因此膜泡出芽与融合的平衡对其结构的维持也至关重要。Golgins是一个位于高尔基体上的含有卷曲螺旋结构域的蛋白家族(Golgi-associated coiled-coil protein family),主要参与膜泡束缚并促进膜泡融合,进而维持高尔基体的完整结构^[16]。Golgins的卷曲螺旋结构域可形成延伸的杆状结构,有利于长距离的膜泡捕获。此外,Rab、Arf和Arl家族的小GTPases可以与部分Golgins相互作用,介导Golgins对膜泡的识别与捕获^[16-17]。

不同的Golgins定位于高尔基体的不同区域,并发挥相应位置的膜泡束缚作用(图2A)。GM130、Golgin-160和GMAP210定位在顺式高尔基体,主要束缚来自内质网的膜泡。GM130是第一个被鉴定的高尔基体基质蛋白,与GRASP65形成稳定的复合物^[18],主要存在于顺式膜囊的中心区域^[19]。此外,GM130与COPI膜泡上的p115和giantin相互作用,形成的GM130-p115-giantin复合物为COPI膜泡与高尔

基体的融合提供桥接作用^[20]。研究表明,GM130耗竭会导致高尔基体带状结构的断开和蛋白质糖基化修饰的缺陷^[21]。而Golgin-160可将动力微管马达蛋白募集到高尔基体,这对高尔基体在细胞核附近的定位至关重要^[22]。

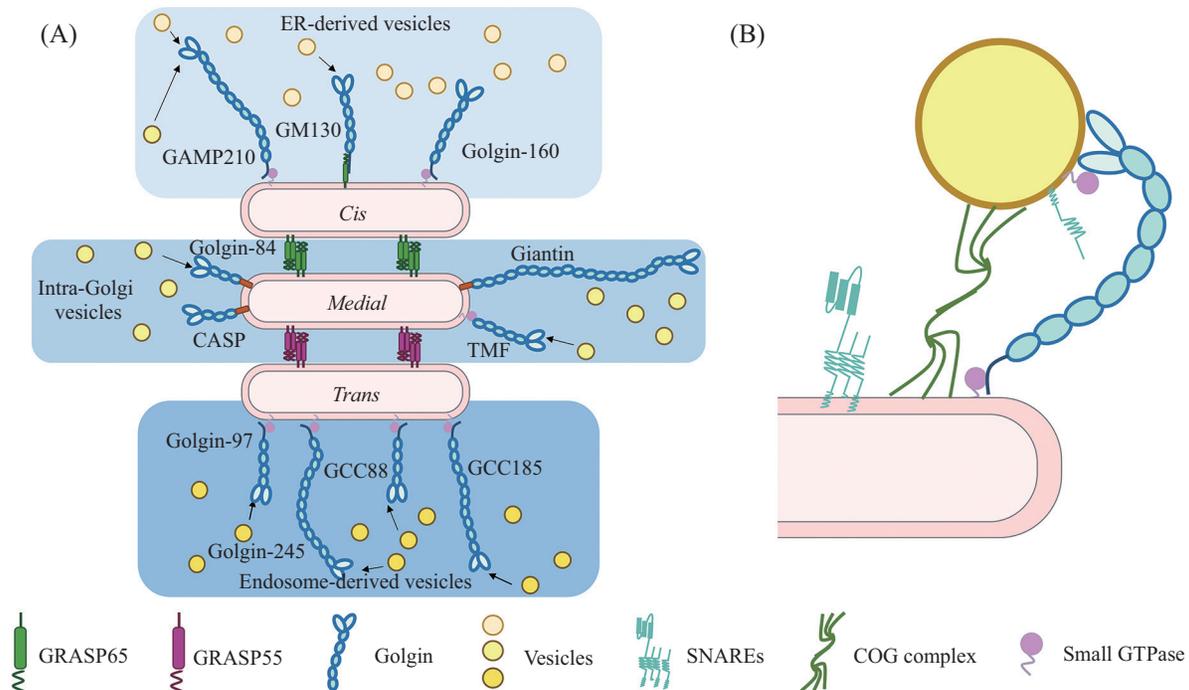
Golgin-84、CASP、giantin和TMF位于高尔基体中间膜囊边缘,主要束缚负责在高尔基体内部运输的膜泡。Golgin-245、Golgin-97、GCC185和GCC88位于反式高尔基体,主要接收来自内吞途径的膜泡^[16]。其中GCC185的缺失使得顺式和反式高尔基体膜囊碎裂并分散到细胞质中^[23],而GCC88敲低会导致较长的高尔基体带状结构形成,过表达则会造成高尔基体带状结构断裂^[24],这些研究表明Golgins在维持高尔基体结构中具有重要作用。

除了Golgins外,还有定位于高尔基体上的Rabs,以及由8个亚基组成的保守的寡聚高尔基体复合体(conserved oligomeric Golgi complex, COG complex)和高尔基体SNAREs,协同作用完成膜泡与高尔基体膜囊的融合。以COPII包被的膜泡为例,膜泡出芽后,含有长的coiled-coil结构域的Golgin会先选择性地长距离捕获膜泡,随后COG复合体进一步拉近膜泡,并依次对齐两个膜上的SNAREs,促进反式SNARE复合物的形成,从而使膜泡融合发生(图2B),进而维持高尔基体的结构稳态^[25]。

虽然已知Golgins主要参与高尔基体运输膜泡的束缚,但是其介导的膜泡束缚分子机制需要更深入的研究,例如,Golgins如何与COG复合体以及膜融合中的SNAREs协调作用,在很大程度上仍然未知。不同的Golgins识别的膜泡类型和范围也需要进一步确定。此外,Golgins是否介导高尔基体膜囊之间的相互束缚及其具体的分子机制也是未来需要重点研究的方向。

1.4 高尔基体在细胞周期中的动态变化

细胞增殖需要有序的细胞分裂,而高尔基体结构在细胞分裂周期中是高度动态且受到严密调控的。在分裂间期,高尔基体相对紧密,高尔基体堆叠通常侧向连接成带状结构。在G₂晚期,有丝分裂开始之前,高尔基体带状结构发生断裂。在有丝分裂早期,堆叠结构进一步分解,形成多个膜泡以及部分小的管状结构;在分裂中期,这些膜泡结构聚集在纺锤体周围,或分散在细胞质中;在分裂后期,纺锤体伸长,染色单体分离,细胞质中的膜泡被分配到两个



A: GRASPs和Golgins在高尔基体上的定位与功能。GRASP65定位在顺式高尔基体膜囊上, GRASP55则定位在中间和反式高尔基体膜囊上。GRASPs形成反式寡聚体, 像“胶水”一样将相邻的膜囊粘在一起, 促进高尔基体堆叠结构的形成。Golgins主要参与高尔基体相关膜泡束缚。Golgins主要通过两种方式定位在高尔基体上, 一种是通过C末端的跨膜结构域直接锚定在高尔基体膜上(Golgin-84、CASP和giantin), 另一种是通过与其他高尔基体定位蛋白的相互作用定位在高尔基体上。其中GM130通过与GRASP65结合定位在顺式高尔基体上, 而GAMP210、Golgin-160、TMF、Golgin-97、Golgin-245、GCC88和GCC185则通过与不同的小GTPases相互作用定位在高尔基体上。定位在不同位置的Golgins束缚不同类型的膜泡。B: 高尔基体COPI膜泡束缚简图。Golgins会先选择性地长距离捕获COPI膜泡, 随后COG复合体进一步拉近膜泡, 并协助对齐v-SNAREs和t-SNAREs, 促进反式SNARE复合物的形成, 最终使膜泡融合发生。

A: the localization and function of GRASPs and Golgins at the Golgi apparatus. GRASP65 is present in *cis*-Golgi, while GRASP55 is more concentrated in the *medial*- and *trans*-cisternae. GRASPs adhere adjacent membranes together into stacks like “glue” by forming trans-oligomers. Golgins mainly participate in the tethering of Golgi associated vesicles. Golgins are located on the Golgi in two ways. Golgin-84, CASP and giantin directly insert to the Golgi membrane through the C-terminal transmembrane domain, and the others are located on the Golgi through interactions with Golgi-localized proteins. GM130 binds with GRASP65, while GAMP210, Golgin-160, TMF, Golgin-97, Golgin-245, GCC88, and GCC185 are located on the Golgi through interactions with different small GTPases. Different Golgins are localized in the distinct regions of the Golgi, consistent with their ability to tether different vesicle types. B: schematic diagram of the tethering process of COPI vesicles in Golgi. Golgins on the Golgi first selectively capture COPI vesicles over a long distance. The COG complex brings the vesicles even closer to the Golgi rim and assists in aligning v-SNAREs and t-SNAREs, facilitating the formation of *trans*-SNARE complexes and allowing for vesicles fusion to occur.

图2 高尔基体结构相关蛋白在高尔基体上的定位及功能

Fig.2 The localization and function of Golgi structure related proteins

子细胞中; 在分裂末期和胞质分裂期, 子细胞的膜泡重组成靠近中心体的较大的带状结构和靠近收缩环的较小的带状结构; 最后在G₁初期, 两个带状结构合并, 形成完整的高尔基体^[5]。

高尔基体结构在细胞周期中的变化主要包括高尔基体带状结构、堆叠结构以及膜囊的分解和重组。研究表明, 这些结构的变化与上述高尔基体基质蛋白(GRASPs和Golgins)的翻译后修饰(如磷酸化修饰)的调控密切相关^[26]。高尔基体带状结构的断开以及高尔基体堆叠结构的解体主要由两个途径介导: 一是膜分裂蛋白CtBP/BARS断开堆叠之间的小管, 破坏高尔基体带状结构^[27]; 二是磷酸化修饰。前

面提到GRASPs蛋白含有SPR结构域, 该结构域含有多个磷酸化修饰位点。在有丝分裂过程中细胞周期蛋白依赖性激酶1(cyclin-dependent kinase 1, Cdk1)和polo样激酶1(polo-like kinase 1, Plk1)对GRASP65进行磷酸化修饰, 阻止反式寡聚体的形成进而促使高尔基体相邻的膜囊分离, 并阻碍高尔基体带状结构形成。GRASP55发挥作用的机制与GRASP65类似^[12]。

高尔基体膜囊进一步被分解成膜泡的原因是膜泡出芽与融合的不平衡。在有丝分裂期间, Arf1触发COPI膜泡形成, 使高尔基体不断出芽形成膜泡, 但由于GM130被Cdk1磷酸化, 无法与p115结合, 膜

泡与靶向膜的融合被阻断, 这导致高尔基体上游不断出芽形成膜泡, 而下游膜泡与高尔基体膜囊的融合受阻, 最终导致高尔基体膜泡化^[26]。

在有丝分裂后期, 高尔基体膜泡通过NSF和p97这两个ATP酶及其衔接蛋白介导的融合过程进行重组^[28]。同时, GRASP65、GRASP55和GM130都被蛋白磷酸酶PP2A去磷酸化。GM130恢复与p115的相互作用, 促进膜泡与高尔基体膜囊的融合。在早期高尔基体堆叠结构形成时, 相邻的膜囊主要依靠p115进行连接。当初始连接完成后, 堆叠结构的重组则依赖去磷酸化的GRASP65和GRASP55来实现^[29]。

过去的研究侧重阐释高尔基体结构在细胞分裂时期动态变化的分子机制, 但还需要深入解析高尔基体结构经历周期性分解与重组的生物学意义。另外, 高尔基体膜是否需要平均分配以及在细胞分裂间期是否存在高尔基体复制现象也是重要的研究方向与内容。

综上所述, 高尔基体结构的维持以及在细胞周期中有序的动态变化是由高尔基体基质蛋白及其受到的严密的翻译后修饰调控的。高尔基体结构的维持对其功能发挥至关重要, 那么这些结构相关蛋白在外界刺激或病理条件下的表达或调控也会对高尔基体功能产生影响。

2 高尔基体在常规分泌途径中的功能紊乱与疾病发生

高尔基体作为内膜运输系统中处于中心位置的细胞器, 在传统的常规分泌途径中有两种功能: 一是接收来自内质网的货物, 并使其在不同膜囊上有序地进行加工、修饰, 如糖基化、硫酸化、磷酸化和酶解加工等^[4]; 二是高尔基体作为常规分泌途径中的蛋白质分选中心, 对蛋白质在细胞内外的正确定位和功能发挥至关重要。高尔基体的正确结构是其功能发挥的基础, 而在多种疾病, 如癌症和神经退行性疾病中, 高尔基体结构出现缺陷, 功能也受到阻碍。因此, 本节我们着重从高尔基体在蛋白质糖基化修饰和分选运输中的功能入手, 综述已知的高尔基体结构和功能异常与疾病之间的联系和分子机制, 并探讨以高尔基体为切入点治疗疾病的可能性。

2.1 高尔基体是糖基化修饰的重要场所

在癌症的诊断和治疗中如何区分正常细胞和癌细胞是关键。癌细胞与正常细胞相比, 细胞膜上的

以及分泌到细胞外的蛋白质和脂质的糖基化发生改变。因此蛋白质的糖基化修饰是治疗癌症的关键抓手, 可以作为癌症诊断的标志物或治疗的靶标^[30-31]。糖基化修饰是最复杂和最多样的翻译后修饰, 它需要多种不同的糖基转移酶、糖苷酶、核苷酸糖转运蛋白以及底物的协同作用, 才能最终在蛋白质或脂质上加上单糖或糖链。高尔基体是糖基化修饰发生的重要场所, 而在癌变的细胞中高尔基体往往会发生结构的改变。因此, 解析高尔基体结构调控糖基化修饰的机制, 以及癌症中高尔基体的结构变化与糖基化修饰紊乱之间的联系至关重要。

2.1.1 正常高尔基体结构维持正确的糖基化修饰糖基化修饰是一种非常复杂的修饰类型, 将糖链或单糖连接到各种大分子上, 可产生糖蛋白、糖脂、GPI锚定蛋白(glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins)和蛋白聚糖等。大约一半的人类蛋白质被糖基化修饰, 蛋白质的糖基化修饰主要分为*N*-连接糖基化修饰和*O*-连接糖基化修饰。其中蛋白质的*N*-连接糖基化修饰起始于粗面内质网, 完成于高尔基体, 而*O*-连接糖基化修饰主要发生在高尔基体中^[32]。蛋白质的*N*-连接糖基化修饰是从内质网的寡糖转移酶(oligosaccharyltransferase, OST)在新合成蛋白链的Asn-X-Ser/Thr基序(其中X是除Pro以外的任何氨基酸)中的Asn处添加一个由14个糖分子组成的寡糖链(GlcNAc2Man9Gluc3)开始的^[33]。随后寡糖链再去除3个葡萄糖和1个甘露糖产生高甘露糖型的*N*-聚糖, 并被COPII转运膜泡运输到高尔基体。随后糖蛋白依次通过顺式、中间和反式高尔基体膜囊, 在不同的酶的作用下添加或去除甘露糖、半乳糖、唾液酸和岩藻糖等, 从而产生高甘露糖型、复合型或杂合型的*N*-聚糖^[34]。同样地, 蛋白质的*O*-连接糖基化修饰也依赖于糖蛋白在高尔基体膜囊之间的有序转移。

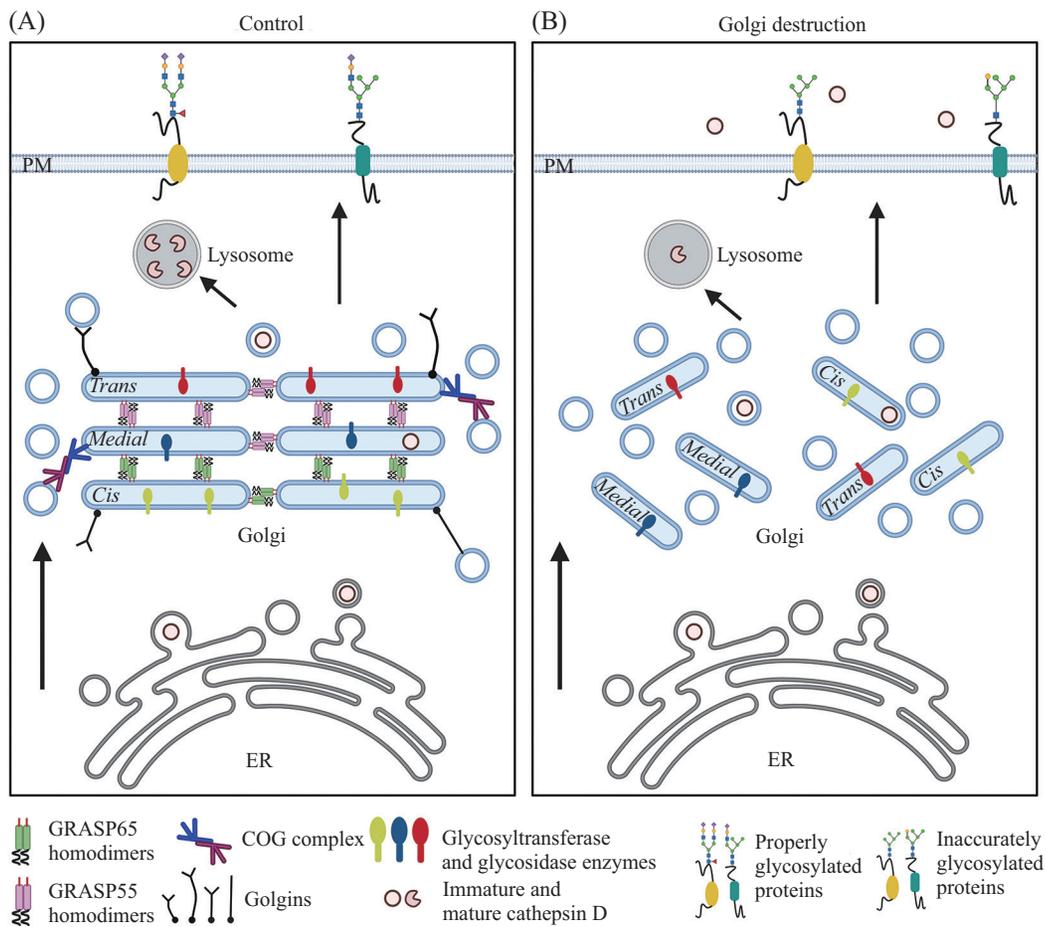
由于蛋白质的糖基化修饰不像DNA复制、蛋白质翻译一样有模板, 其更依赖于蛋白底物在高尔基体膜囊中的顺序转运以及在正确的位置被相应的糖基化酶加工。高尔基体以有序的结构组织不同的糖苷酶、糖基转移酶和核苷酸糖转运蛋白分布在不同的膜囊和不同的位置上, 使它们可以依次修饰货物分子^[35](图3A)。高尔基体结构蛋白如GRASPs、Golgins和COG复合体等通过共同作用维持高尔基体正确的堆叠结构以及糖基化酶的正确定位, 从而

确保蛋白质有序的糖基化修饰(图3A)。

敲除高尔基体结构蛋白 GRASP65/GRASP55 破坏高尔基体堆叠和带状结构, 会造成糖基化修饰缺陷, 降低 *N*-连接糖基化修饰的丰度和复杂性, 最终改变细胞质膜的糖蛋白组分(图 3B)。可从两个方面解释 GRASPs 缺失引起的糖基化修饰缺陷。一是 GRASPs 缺失破坏了高尔基体的内部区室化, 使得糖基化酶无法定位在正确的位置, 导致底物修饰的紊乱; 二是高尔基体去堆叠加快了膜泡出芽速度, 导致了糖基化酶对货物的处理时间不够, 从而造成了糖基化紊乱^[36]。

COG复合体对膜泡在高尔基体内的逆向运输起重要作用, 人类COG的突变会引起先天性糖基化障碍 (congenital disorders of glycosylation, CDG)和多器官系统病变, CDG患者中由COG缺陷引起的糖基化修饰异常非常普遍, 包括早期的甘露糖基化缺陷到晚期的唾液酸化缺陷^[37]。其中的机制可能是COG的敲除导致高尔基体膜泡逆向运输受损, 使得高尔基体膜泡化, 糖基转移酶如ST6GAL1的定位错误且稳定性降低, 最终导致蛋白质的末端唾液酸化减少^[38-40]。

因此, 糖蛋白正确的加工需要多个条件同时达成, 首先需要糖基化酶在高尔基体不同膜囊中的准



A: 在正常情况下, 高尔基体各组份协同作用, 保证蛋白质糖基化的正确进行。GRASPs和Golgins维护高尔基体扁平膜囊堆叠结构和带状结构。COG复合体负责糖基化酶的逆向运输和在不同高尔基体膜囊上的正确定位。蛋白质的糖基化修饰是在分布在不同高尔基体扁平膜囊上的糖苷酶和糖基转移酶等的顺序作用下完成的。B: 在高尔基体结构蛋白缺失的情况下, 扁平膜囊分散在细胞质中, 糖基化酶因不能够对货物蛋白进行有序修饰, 最终产生修饰异常的货物蛋白。

A: under normal conditions, the components of the Golgi apparatus work together to ensure the correct glycosylation of proteins. GRASPs and Golgins maintain Golgi stacks and ribbon. The COG complex is responsible for the recycling of glycosylases and their correct localization on different Golgi cisternae. The glycosylation modification of proteins is processed sequentially by glycosidases and glycosyltransferases in the different Golgi cisternae. B: in the absence of Golgi structural proteins, proper Golgi structure is disrupted, and the Golgi cisternae are dispersed in the cytoplasm. As a result, cargo proteins cannot undergo orderly modifications in the Golgi, ultimately leading to abnormal modifications.

图3 有序的高尔基体结构决定其精确功能(根据参考文献[35]修改)

Fig.3 A well-organized Golgi structure promises its proper function (modified from the reference [35])

确定位和分布,其次货物需要以适当的速率,按照正确的顺序到达相应的位置进行加工。而作为糖基化修饰发生的主要场所,高尔基体独特的膜囊堆叠结构为糖基化的精确进行提供了最佳保证。此外,高尔基体还为每种酶提供了合适的微环境,如pH、离子、脂质组成等,以最大限度地提高酶活性,保证高尔基体功能的发挥^[41]。

2.1.2 高尔基体结构蛋白失调与癌症 癌症是严重威胁人类健康和生命的重大疾病之一。癌症的一个常见特征就是高尔基体的形态异常。在一些癌症细胞系如肺癌细胞H1650中,虽然存在完整的高尔基体堆叠,但带状结构会被破坏,而在另一些癌症细胞如结肠癌、乳腺癌、胃癌以及前列腺癌细胞等中^[42],高尔基体堆叠本身也会被分解,甚至发生碎片化。此外,高尔基体碎片化也见于患者的多种肿瘤组织类型中,如正常结肠上皮细胞中存在完整的高尔基体结构,而癌性结肠上皮中存在小的点状高尔基体结构。在垂体瘤中,高尔基体具有明显的“蜂窝状”结构,而在黑色素瘤中高尔基体膜囊出现肿胀现象^[43]。

正确的糖基化修饰离不开正常的高尔基体结构,癌细胞高尔基体结构的破坏,往往伴随着糖基化修饰的紊乱。癌细胞中的糖基化修饰异常有其特点,如不论N-聚糖还是O-聚糖的唾液酸化程度通常都会增加。例如在癌细胞中,不仅Tn和T抗原过表达,高度唾液酸化的Tn和T抗原水平也有增加。糖蛋白在细胞信号转导、细胞间通讯及细胞与胞外基质之间的连接中起重要调节作用,这些错误的糖基化修饰会破坏糖蛋白的功能,导致癌细胞的迁移和免疫逃逸等^[32]。

癌症细胞中多个高尔基体结构蛋白表达失调与异常的糖基化修饰密切相关。GM130和GRASP65除了维持高尔基体结构外,形成的GM130-GRASP65复合物直接介导T合成酶C1GalT1在顺式高尔基体上的正确定位和功能^[44]。研究表明,在结直肠癌和乳腺癌中GM130的表达下调,与癌细胞的增殖和迁移相关。其机制可能是GM130缺失降低了高尔基体上的Cdc42活性,并下调了E-钙黏蛋白的表达,促进了癌细胞的上皮-间质转化^[45]。然而在肺癌和胃癌中GM130的表达水平却是升高的,在胃癌细胞中敲低GM130会抑制癌细胞的上皮-间质转化,抑制癌细胞的侵袭^[46]。因此,GM130虽具有成为癌症治疗靶点的潜力,但与癌症发生发展之间的关系还有待进

一步探究。鉴于GM130在高尔基体结构维持中的重要功能,GM130的表达水平或许应该被严格控制,GM130过多或过少都会导致高尔基体的结构异常,进而导致高尔基体功能紊乱,可能造成疾病的发生发展。

Giantin除了维持高尔基体带状结构外,还介导O-连接糖基化修饰中的核心2糖基转移酶C2GnT-L和C2GnT-M靶向高尔基体^[47]。在前列腺癌中,giantin的功能障碍导致 α -甘露糖糖苷酶IA移位,使得完整的N-连接糖基化修饰过程不能充分进行,导致细胞表面蛋白多被高甘露糖型N-聚糖修饰。因此,细胞表面的异常高甘露糖型N-聚糖有潜力作为恶性前列腺癌的标志物^[47]。

除了糖蛋白外,鞘糖脂(glycosphingolipids, GSL)广泛存在于细胞膜,在调节细胞增殖、黏附和识别等多方面也发挥着重要作用,其异常表达与癌症的发生发展密切相关,有望成为肿瘤标志物与治疗靶标。GSL合成起始于内质网,在高尔基体中进一步加工。多个高尔基体蛋白,如GOLPH3和GRASP55对GSL的合成起调控作用。GOLPH3可以与GSL合成途径中的多种糖基化酶,如乳糖神经酰胺合成酶(lactosylceramide synthase, LCS)互作,将它们招募到COPI膜泡进行逆向运输,一方面防止糖基化酶被运输至溶酶体降解,从而提高了高尔基体上糖基化酶的整体蛋白水平。另一方面通过逆向运输改变了糖基化酶在高尔基体中的极性分布。GRASP55也可以和GSL合成途径中关键的糖基化酶,如葡萄糖神经酰胺合成酶(glucosylceramide synthase, GCS)和乳糖神经酰胺合成酶1(lactosylceramide synthase 1, LCS1)结合,阻止它们进入COPI膜泡进行逆向运输,将它们驻留在反式高尔基体上。如果敲除GRASP55, GCS和LCS1则会定位到顺式高尔基体上。GRASP55与GOLPH3之间可能有某种相互协调的机制,共同通过控制糖基化酶在高尔基体上的定位来控制GSL的合成^[48-49]。

2.1.3 高尔基体与癌症研究中的重要问题 虽然已经观察到多种癌症细胞中高尔基体的形态变化,但尚不清楚癌症细胞高尔基体形态的改变可以在多大程度上反映恶性肿瘤进展。此外,还有一些癌症细胞系(如宫颈癌细胞HeLa)的高尔基体形态与非癌细胞无明显区别,因此,癌细胞中高尔基体的确切特征仍有争议。对于该问题笔者认为一是通过超高分

辨显微技术, 对高尔基体结构进行更精细的观察和定义; 二是利用人工智能分析比较正常细胞和各种癌症细胞中高尔基体的结构改变, 建立模型, 以期从高尔基体的形态角度对癌症的早期诊断给出建议和帮助。另外癌症中高尔基体的结构改变是受肿瘤微环境影响的被动选择, 还是主动适应尚不清楚。为了回答这个问题, 未来还需要更多的深入研究来探索高尔基体对细胞应激的反应机制。

虽然通过对GRASPs、GM130、giantin和GOLPH3等结构蛋白的研究, 我们对高尔基体结构调控复杂的糖基化修饰机制有了初步了解。但糖基化修饰的真正实施者, 众多糖基化修饰酶的蛋白水平及定位对底物糖基化修饰的调控作用还知之甚少。另外, 不同的底物其糖基化修饰状态不同, 高尔基体是如何分辨不同底物进行有序精准的糖基化修饰的也不清楚。因此, 未来对高尔基体糖基化修饰酶及底物的精细研究对揭示癌症的发生发展机制有重要理论意义。

2.2 高尔基体是货物常规分泌途径中的集散地

如果把细胞中的物质运输比作一张物流网, 高尔基体就是货物在细胞常规分泌途径中的集散地, 而膜泡就像一个个物流车。高尔基体相关的主要膜泡类型是COPI包被膜泡、COPII包被膜泡和网格蛋白/接头蛋白包被的膜泡。蛋白质和脂质在内质网上合成之后通过COPII包被膜泡运输到高尔基体, 在高尔基体中完成多种加工与修饰, 随后在TGN上分选, 最后通过网格蛋白/接头蛋白包被的膜泡将货物运到内体、溶酶体、细胞质膜, 或者通过细胞膜将其分泌到细胞外。而COPI包被膜泡则起到回收作用, 负责将货物从高尔基体逆向运输到内质网, 或是介导高尔基体内的逆向运输^[50]。高尔基体通过膜泡对蛋白的正确运输和分选保证了蛋白质在正确位置发挥其生理功能, 对细胞极性的维持、细胞免疫和细胞分泌的调节必不可少, 高尔基体结构的破坏会导致蛋白质运输和分选紊乱, 与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、癌症等疾病密切相关。

2.2.1 货物蛋白在高尔基体内的运输和分选机制

货物蛋白是如何通过高尔基体独特的堆叠和带状结构一直有争议。目前在高尔基体内的运输有两种主流假说, 分别是膜泡运输模型(vesicular transport model)和膜囊成熟模型(cisternal maturation model)^[51]。膜泡运输模型认为高尔基体的各层膜囊及膜囊上的

各种修饰酶类是相对稳定的, 货物通过转运膜泡在相邻膜囊间顺向运输。高尔基体膜囊成熟模型认为新的顺式膜囊是由内质网衍生的COPII膜泡在ERGIC处融合产生的^[52]。随后膜囊以及其中携带的货物从顺面到反面渐次成熟并迁移, 直到旧的高尔基体膜囊在TGN形成分泌膜泡, 并将货物运输到指定位置, 而高尔基体驻留蛋白, 如糖基化修饰酶, 则通过COPI包被膜泡逆向运输回收到新生膜囊^[53]。两种假说都有支持性的实验证据, 但也都有缺点。例如, 膜泡运输模型不能解释大小不同的货物分子为何都能通过膜泡运输, 而膜囊成熟模型不能解释不同的货物分子在高尔基体内的运输速率不同。随后, 有研究观察到高尔基体各层膜之间有高尔基体小管(Golgi tubule)连接, 可以使得某些较小的货物进行快速运输, 同时也提供了高尔基体驻留蛋白的逆向运输通路。此外也有学者提出了高尔基体Rapid partitioning模型^[54-55], 该模型推测高尔基体的每一层膜囊都分为加工区和分泌区, 加工区富含甘油磷脂, 分泌区富含鞘磷脂。高尔基体驻留蛋白集中在加工区, 分泌蛋白在加工区加工后通过分泌区运输出去。这些理论或许并不互斥, 在不同的细胞或组织类型中某种模型可能占主导地位, 未来显微技术的发展或将更好地展示高尔基体的内部运输情况。

蛋白质在通过高尔基体膜囊完成加工之后, 被集中在TGN进行分选和膜泡运输。目前研究比较清楚的是溶酶体分选途径。在通过高尔基体时, 多种溶酶体水解酶的寡糖链的甘露糖残基发生磷酸化, 形成6-磷酸甘露糖(mannose-6-phosphate, M6P)。这些M6P标签被TGN上的6-磷酸甘露糖受体(mannose-6-phosphate receptor, M6PR)识别, M6PR与接头蛋白结合, 二者被网格蛋白识别并最终形成网格蛋白运输膜泡, 随后膜泡通过出芽的方式转运至内体。内体中偏酸性环境诱导受体与溶酶体酶的解离, M6PR因此再被回收到TGN利用^[56]。除了M6PR以外, TGN上还有很多受体, 如同样介导溶酶体酶分选的Sortilin, 可能参与调控淀粉样蛋白前体蛋白APP分选和运输的SorLA受体(Sortilin-related receptor with A-type repeats), 与GCCase(glucocerebrosidase)转运相关的LIMP-2(lysosomal integral membrane protein type 2)受体, 以及Wnt蛋白的分选受体Wntless等^[57]。

除了受体依赖的膜泡运输之外, 高尔基体还通过Cab45以钙离子依赖的方式结合可溶性蛋白分子,

并介导这些可溶性蛋白从TGN中分选出去^[58]。此外,高尔基体可以通过将易形成聚集体的分泌货物选择性聚集到分泌性储存颗粒(secretory storage granules)进行分选,首先在TGN上富含胆固醇和鞘脂的膜区域形成未成熟储存颗粒(imature storage granule, ISG)并释放出去,ISG随后进一步浓缩形成成熟储存颗粒(mature storage granule, MSG)^[59]。

除了接头蛋白和受体蛋白外,还有众多分子如高尔基体结构蛋白、小GTPases蛋白、SNARE蛋白以及各种磷脂参与蛋白质在TGN上的分选过程^[60]。其中,肌动蛋白丝(actin filaments)和肌球蛋白(myosin)在转运膜泡的释放中发挥着驱动作用^[61]。

蛋白质在高尔基体上的分选和分泌还有一些重要问题亟待研究。首先是分泌膜泡类型的鉴定,不同的蛋白可能依赖于不同的分泌膜泡,尽管研究者们认为高尔基体上存在更多种类的膜泡,但由于技术上的限制,高尔基体膜泡的分离和鉴定依旧是一个难题。其次,不同种类的分泌蛋白如何在TGN上被精准分类,其中的机制也是谜题。另外,不同分泌膜泡可能在TGN上不同的区域分泌,TGN上是否有更为精细的结构区域划分也有待确定。

2.2.2 高尔基体的蛋白运输异常与疾病 多种神经退行性疾病如肌萎缩性侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、AD、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、亨廷顿舞蹈症(Huntington's disease, HD)、多系统萎缩(multiple system atrophy, MSA)与蛋白加工和膜泡运输紊乱有关^[62]。AD是困扰老年人的重大疾病,其主要病理学特征是分泌到细胞外的A β 形成淀粉样蛋白斑块以及过度磷酸化的tau蛋白沉淀引起的神经纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT)^[63]。

研究发现,AD患者的神经元在疾病发展的最早阶段就发生了高尔基体碎片化。在超微结构水平上,高尔基体带状结构断开,高尔基体堆叠直径变小,同时在高尔基体堆叠附近的膜泡增多^[64]。AD的高尔基体碎片化的机制有多种。一种可能是tau沉淀和NFT的形成会破坏微管网络的分布。微管缺陷会影响高尔基体在中心体附近的定位以及内质网到高尔基体的货物运输,直接改变高尔基体的大小和形态。Tau还可通过抑制驱动蛋白等与微管的结合来影响膜泡的运输^[65]。另一种可能是通过调节高尔基体基质蛋白的磷酸化修饰来影响高尔基体结构和货物运输。

研究表明A β 积累会激活Cdk5,而Cdk5可以通过两种方式发挥作用。首先,Cdk5对GM130进行磷酸化修饰,抑制其与p115的相互作用,阻碍膜泡与高尔基体膜的融合^[66]。其次,Cdk5可以对GRASP65进行磷酸化修饰,破坏高尔基体结构,导致APP在高尔基体内的运输速度增加,促进A β 的分泌^[63]。此外,抑制Cdk5的活性或者表达GRASP65磷酸化失活突变体均可以恢复高尔基体的结构并减少A β 的分泌^[63,67]。这也提示我们对高尔基体的运输调控是AD治疗的潜在药物靶点。

癌症也与高尔基体介导的膜泡运输异常相关。GOLPH3是第一个被鉴定出的高尔基体驻留癌蛋白。GOLPH3与磷脂酰肌醇4磷酸(phosphatidylinositol-4-phosphate, PtdIns4P)结合被募集到TGN中。PtdIns4P/GOLPH3/MYO18A/F-actin复合物随后产生拉伸高尔基体膜的张力,促进膜泡从高尔基体出芽并向细胞质膜运输^[68]。胃癌细胞通过高表达GOLPH3增强高尔基体的膜泡释放和货物运输来增强转移能力^[69]。

尽管在癌症、神经退行性疾病中会出现高尔基体结构的破坏,以及膜泡运输的异常,但对它们的关系尚不清楚。这需要未来对货物分子,如APP在高尔基体内的运输路径和调控模式进行精细的解析,以期在关键步骤处进行干预,为疾病诊疗提供新方法。

3 高尔基体参与其他生理功能

除了调控经典的分泌途径外,近期的研究表明,高度动态的高尔基体还广泛参与其他生理活动,如细胞自噬、蛋白质非常规分泌、细胞凋亡和细胞膜修复等^[35,70-71]。

3.1 高尔基体参与细胞自噬

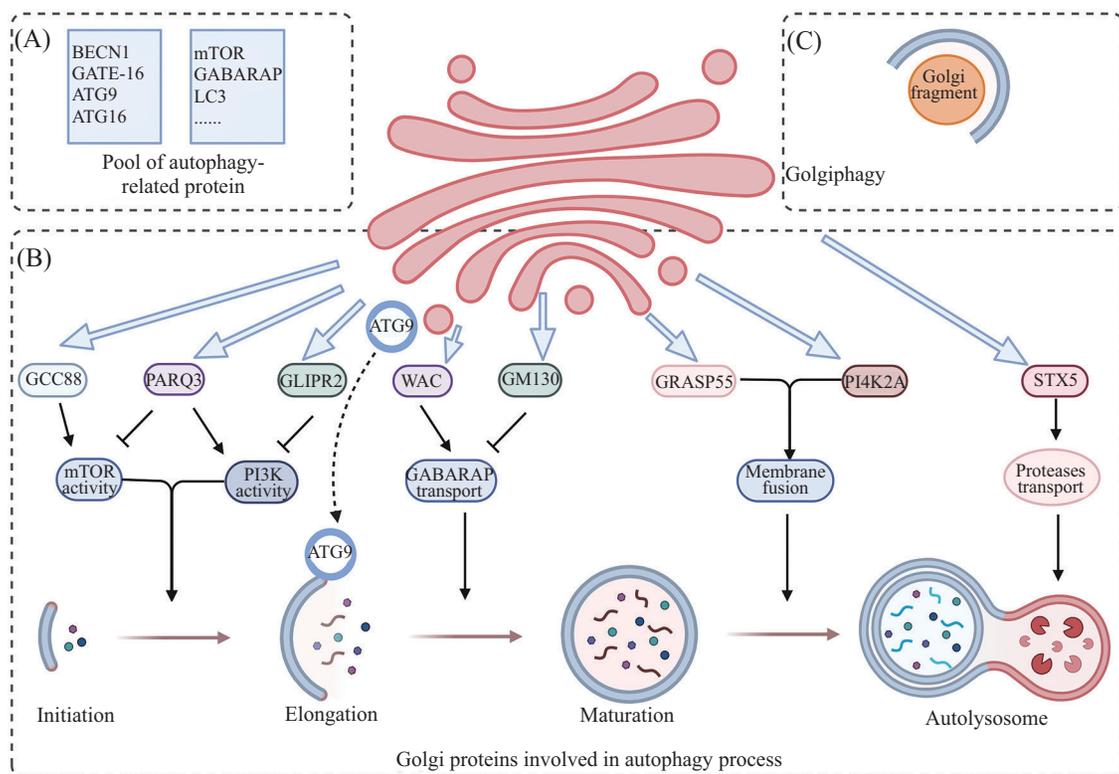
高尔基体高度敏感,可作为细胞内的感受器,面对营养胁迫或病原体入侵时参与自噬相关通路,在帮助细胞维持稳态中起重要作用。高尔基体可从多方面调控自噬(图4)。首先作为蛋白质的加工和分选中心,高尔基体可加工和存储自噬相关蛋白。在正常条件下,诸多自噬相关蛋白如BECN1、GATE-16、ATG9、ATG16、GABARAP和LC3定位于高尔基体上(图4A)^[72]。在诱导自噬的情况下,自噬体经典标记物LC3可在高尔基体进行脂化修饰后再定位到自噬体双层膜上^[73]。其次,高尔基体可以作为信号整

合平台调控自噬起始(图4B)。部分mTOR位于高尔基体,高尔基体定位的支架蛋白PAQR3通过与mTOR竞争性结合Raptor和mLST8影响mTORC1组装,抑制mTORC1的活性,促进自噬起始^[74]。敲除Golgin蛋白GCC88导致高尔基体带状结构异常,使得高尔基体定位的mTOR活性降低,从而激活自噬^[75]。高尔基体蛋白还可负调控自噬发生。高尔基体蛋白GLIPR2与BECN1直接结合,抑制ATG14复合物的激酶活性。研究表明,在细胞或小鼠中敲除GLIPR2可增加PtdIns3P的产生,促进自噬体形成^[76](图4B)。

自噬体的生长离不开ATG9囊泡,ATG9主要定位于高尔基体TGN以及内体上。在营养胁迫的情况下,ATG9囊泡可作为自噬体生长的“种子”,与ATG2蛋白协同作用生成新的自噬体膜结构^[77](图4B)。

高尔基体多个结构蛋白也参与调控自噬(图

4B)。GM130可将GABARAP锚定在高尔基体上,对自噬起负调控作用。但在饥饿条件下,WAC抑制GM130与GABARAP的结合,使GABARAP从高尔基体上解离,随后运输到自噬前体,促进ULK激酶活性和自噬体延伸^[72]。高尔基体结构蛋白GRASP55可感受细胞内葡萄糖水平。当葡萄糖缺乏时,GRASP55的O-GlcNAc糖基化修饰减少,部分GRASP55被LC3锚定在自噬体上,桥连自噬体和溶酶体上的LAMP2,促进自噬体成熟^[78]。GRASP55还可与UVRAG复合物中的BECN1直接互作,促进UVRAG复合物的组装和自噬体膜定位^[79]。此外,高尔基体是富含PtdIns4P的细胞器,高尔基体的PI4K2A可以在GABARAP的作用下从高尔基体转运到自噬体,在自噬体上产生PtdIns4P,促进自噬体与溶酶体融合^[80]。



A: 多个自噬相关蛋白定位在高尔基体上。B: 多个高尔基体蛋白调控自噬进程。高尔基体蛋白GCC88、PARQ3、GLIPR2通过调控mTOR活性和PI3K活性调控自噬起始。WAC和GM130通过调节GABARAP的转运调控自噬体生长。ATG9囊泡为自噬体生长提供“种子”。GRASP55和PI4K2A通过介导自噬体-溶酶体膜融合促进自噬体成熟。STX5通过调控溶酶体酶的转运影响溶酶体功能。C: 高尔基体本身可发生高尔基体自噬。CALCOCO1、GOLPH3可以作为自噬选择性受体。

A: multiple autophagy-related proteins localize on Golgi. B: multiple Golgi proteins regulate autophagy processes. GCC88, PARQ3, and GLIPR2 modulate autophagy initiation by regulating mTOR activity and PI3K activity. WAC and GM130 regulate autophagosome growth by modulating GABARAP transport. ATG9 vesicles provide seeds for autophagosome elongation. GRASP55 and PI4K2A promote autophagosome maturation by mediating autophagosome-lysosome membrane fusion. STX5 affects lysosomal function by affecting the proper transport of lysosomal enzymes. C: the Golgi apparatus itself may undergo Golgiphagy. CALCOCO1 and GOLPH3 can serve as autophagy selective receptors.

图4 高尔基体参与细胞自噬

Fig.4 Golgi apparatus contributes to autophagy

高尔基体上定位的SNARE蛋白如STX17、STX16、STX5等也参与自噬。STX5通过调控内质网到高尔基体的蛋白转运参与自噬调控。STX5的缺失导致高尔基体碎片化,影响溶酶体蛋白酶的正常定位,导致溶酶体功能缺陷,最终造成自噬体积累^[81](图4B)。

除了高尔基体对自噬的调控外,高尔基体本身也能作为自噬底物,即发生高尔基体自噬(Golgi-phagy)(图4C)。有研究表明CALCOCO1、GOLPH3作为选择性自噬受体介导高尔基体的自噬降解途径^[82-83]。但高尔基体自噬作为一个新兴概念,其分子机制有待进一步探究。另外,在诱导自噬条件下,高尔基体结构会变得松散,但高尔基体松散与自噬之间的因果关系尚不清楚。因此高尔基体与自噬之间的调控关系仍需深入探究。

3.2 高尔基体参与非常规蛋白分泌

蛋白分泌除了经过内质网-高尔基体内膜运输系统的常规型分泌外,还有近年来的研究热点,即不经过高尔基体被运送到质膜和细胞外的非常规型分泌(unconventional protein secretion, UPS)。尽管非常规蛋白分泌不通过高尔基体,但高尔基体蛋白GRASPs仍在其中发挥重要作用^[35]。其中GRASP55参与III型和IV型的非常规型分泌。在III型非常规型分泌中,没有信号肽的蛋白首先定位到“分泌”细胞器,如自噬体和内体,然后通过细胞器与质膜融合分泌到胞外。III型分泌中研究较多的是细胞因子IL-1 β 。在饥饿应激条件下,IL-1 β 在成熟后会被TMED10转运到ERGIC管腔中^[84],然后通过膜载体输送到质膜进行分泌。载体可能是分泌性自噬体、溶酶体或多囊泡体(multivesicular bodies, MVBs),目前尚不清楚,但有研究表明在进行炎症刺激后,GRASP55与LC3共定位,通过分泌型自噬促进IL-1 β 的分泌^[85]。

在IV型非常规型分泌中,某些压力条件如内质网应激或机械应激下,一些跨膜蛋白虽然进入内质网,但却可以绕过高尔基体到达细胞表面, Δ F508-CFTR就是通过这一途径定位在细胞膜上的。 Δ F508-CFTR是最常见的CFTR(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)致病突变,由于不能正常折叠而被保留在内质网中,且不能通过常规途径定位在细胞表面。内质网应激反应后,GRASP55发生Ser441磷酸化和单体化,从高尔基体定位到内质网,GRASP55通过PDZ1结构域结合 Δ F508-CFTR,

并将其递送到内质网衍生的膜泡中,最终运输到质膜上^[86]。 Δ F508-CFTR是第一个被鉴定为依赖GRASP55的通过非常规分泌途径运输的哺乳动物跨膜蛋白。

除了IL-1 β 和 Δ F508-CFTR外还有多种非常规分泌蛋白都受到GRASP55调控,如IL-18、TGF- β 1、HMGB1、IDE、TACE等。但是尚未报道GRASP55和这些货物分子(TGF- β 1除外)之间有直接相互作用,因此GRASP55参与非常规分泌的具体机制尚不清楚。高尔基体以及GRASP55如何感知细胞压力,募集胞质蛋白,并将蛋白分泌到细胞外仍然是该领域尚未回答的主要问题^[35]。

3.3 高尔基体参与细胞凋亡

细胞凋亡,也被称为程序性细胞死亡,是一种严格受控的细胞自杀机制。细胞凋亡中多种细胞器发生改变,高尔基体是最早受到细胞凋亡调控的细胞器之一。多种高尔基体结构蛋白在细胞凋亡过程中被caspases切割,如GRASP65、Golgin-160、GM130、p115和giantin等,导致高尔基体碎片化^[87]。

凋亡过程中,p115在高尔基体结构发生明显改变之前就被caspase-3和caspase-8切割,切割产生的p115 C末端易位到细胞核中,进一步激活细胞凋亡^[88]。GRASP65在氧糖剥夺(oxygen-glucose deprivation, OGD)或Fas配体诱导的细胞凋亡中被caspases-3切割C末端的D320、D375和D393位点,导致高尔基体破碎。由caspases切割产生的GRASP65的C末端片段通过与Bcl-XL结合靶向线粒体,进一步促进Fas/CD95介导的细胞凋亡。研究表明,表达caspases酶抗性的GRASP65或p115可以抑制高尔基体碎片化并保护细胞免受凋亡^[89]。高尔基体基质蛋白giantin、Golgin-160在凋亡过程中同样也会被caspases切割^[90]。除了高尔基体结构蛋白外,高尔基体上的其他蛋白如SNARE蛋白STX5和GS28,人高尔基体抗凋亡蛋白(human Golgi anti-apoptotic protein, h-GAAP)和高尔基体整合膜蛋白4(Golgi integral membrane protein 4, GOLIM4)也都被报道参与细胞凋亡^[87]。

不过高尔基体如何在较早时期感受到凋亡信号的机制尚不完全清楚,高尔基体在凋亡中是否会与其他细胞器互作进而参与凋亡的机制也有待进一步探究。

3.4 高尔基体参与细胞迁移

高尔基体是非中心体微管(non-centrosomal mi-

crotubules)的形成中心之一,在细胞极性的维持和细胞迁移中发挥重要作用。在细胞迁移中,需要高尔基体解聚,膜泡通过极性运输到细胞前缘,为细胞前缘提供新的膜成分。在这一过程中高尔基体结构蛋白GRASP65被ERK在S277位点磷酸化,使GRASP65寡聚体解聚,从而导致部分高尔基体解聚。如果过表达磷酸化缺陷的GRASP65将使高尔基体无法朝向细胞前缘运输,因此GRASP65磷酸化介导的高尔基体重塑对迁移细胞的极性确立至关重要^[91]。此外,高尔基体衍生的微管(microtubules derived from the Golgi, Golgi MTs)在细胞迁移中发挥重要作用,但其机制还不清楚。近期有研究利用超分辨显微镜技术STORM(stochastic optical reconstruction microscopy)发现含有细胞迁移所需货物的膜泡在高尔基体微管上的运输速度更快。高尔基体微管在膜泡的极性运输中还具有更高的稳定性和极性,以及更少的分叉和损伤位点,可以更好地帮助post-Golgi膜泡向细胞外周运输,维持细胞迁移的持续性。如果破坏Golgi MTs则会导致膜泡的运输受损,从而影响细胞迁移^[92]。

3.5 高尔基体参与细胞膜修复

细胞膜是细胞的边界,保护细胞内各种生理活动的正常进行,同时负责细胞内外信号转导和物质交流。细胞膜上种类丰富的蛋白质与脂质的加工修饰等依赖于高尔基体。作为膜细胞器,高尔基体来源的膜泡在运输过程中与细胞膜融合,进而与细胞膜进行充分的物质交换,因此高尔基体对细胞膜生理功能的维持必不可少^[93]。细胞膜的完整性是进行各项生命活动,维持细胞稳态的基础。但我们对于细胞膜在损伤后如何修复的机制了解甚少。近期有研究发现高尔基体对细胞膜的损伤修复至关重要。在线虫表皮损伤之后,细胞膜上的4,5-二磷酸磷脂酰肌醇[phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PtdIns(4,5)P₂]在损伤处大量丢失。在修复过程中高尔基体向伤口处聚集,高尔基体上的PtdIns4P可以作为PtdIns(4,5)P₂的底物在PPK-1/PI4P5K的作用下合成PtdIns(4,5)P₂帮助细胞膜修复。如果抑制高尔基体向伤口处移动或抑制PtdIns4P的合成则会导致细胞膜修复受损,增加线虫的死亡率^[71]。

4 总结与展望

自发现高尔基体以来,研究者对高尔基体的结构与功能以及调控机制进行了深入而广泛的探索。

本文对维持哺乳动物细胞高尔基体结构的重要蛋白的调控机制进行了总结,对高尔基体结构和传统分泌途径功能紊乱与重大疾病,如癌症、神经退行性之间的联系进行了讨论,还简述了近期热点研究的高尔基体非经典功能。尽管我们对高尔基体工作的原理有了一定的了解,但距离解析其中的机制进而应用到人类疾病的治疗中还有很长的距离。

在本文中我们主要总结了以下亟待解决的问题:一是高等生物中高尔基体形成扁平的堆叠结构和带状结构的机制和具体作用;二是高尔基体中丰富的酶和底物如何准确无误的定位并进行有序的加工;三是高尔基体具有高度动态性,不同形态或是不同时期的高尔基体是如何工作的;四是高尔基体作为运输枢纽在各种条件下如何与其他细胞器互作。

如果能对高尔基体进行分离纯化或通过超分辨显微镜等技术对高尔基体糖基化酶和底物等作出精细的定位,以及对高尔基体膜囊结构作出更精确的结构划分,将会有助于我们理解高尔基体的工作原理。同时,探究高尔基体在生理或病理条件下结构和功能的改变机制以及在应激条件下与其他细胞器的互作也有助于我们从内膜运输系统角度认识人类疾病,并可为疾病的诊断与治疗提供新的理论基础。

参考文献 (References)

- [1] BENTIVOGLIO M. 1898: The Golgi apparatus emerges from nerve cells [J]. Trends Neurosci, 1998, 21(5): 195-200.
- [2] KLUMPERMAN J. Architecture of the mammalian Golgi [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011, 3(7): a005181.
- [3] GOLDFISCHER S. The internal reticular apparatus of Camillo Golgi: a complex, heterogeneous organelle, enriched in acid, neutral, and alkaline phosphatases, and involved in glycosylation, secretion, membrane flow, lysosome formation, and intracellular digestion [J]. J Histochem Cytochem, 1982, 30(7): 717-33.
- [4] HUANG S, WANG Y. Golgi structure formation, function, and post-translational modifications in mammalian cells [J]. F1000Res, 2017, 6: 2050.
- [5] WANG Y, SEEMANN J. Golgi biogenesis [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011, 3(10): a005330.
- [6] SUDA Y, NAKANO A. The yeast Golgi apparatus [J]. Traffic, 2012, 13(4): 505-10.
- [7] ROSSANESE O W, SODERHOLM J, BEVIS B J, et al. Golgi structure correlates with transitional endoplasmic reticulum organization in *Pichia pastoris* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. J Cell Biol, 1999, 145(1): 69-81.
- [8] LOWE M. The physiological functions of the Golgin vesicle tethering proteins [J]. Front Cell Dev Biol, 2019, 7: 94.
- [9] KONDYLLIS V, VAN NISPEN TOT PANNERDEN H E, HERPERS B, et al. The golgi comprises a paired stack that is sepa-

- rated at G₂ by modulation of the actin cytoskeleton through Abi and Scar/WAVE [J]. *Dev Cell*, 2007, 12(6): 901-15.
- [10] RAMIREZ I B, LOWE M. Golgins and GRASPs: holding the Golgi together [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2009, 20(7): 770-9.
- [11] BEKIER M E, 2ND, WANG L, LI J, et al. Knockout of the Golgi stacking proteins GRASP55 and GRASP65 impairs Golgi structure and function [J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(21): 2833-42.
- [12] ZHANG X, WANG Y. GRASPs in Golgi structure and function [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2016, 3: 84.
- [13] TANG D, ZHANG X, HUANG S, et al. Mena-GRASP65 interaction couples actin polymerization to Golgi ribbon linking [J]. *Mol Biol Cell*, 2016, 27(1): 137-52.
- [14] LI J, TANG D, IRELAND S C, WANG Y. DjA1 maintains Golgi integrity via interaction with GRASP65 [J]. *Mol Biol Cell*, 2019, 30(4): 478-90.
- [15] BURD C G. GRASPing for consensus about the Golgi apparatus [J]. *J Cell Biol*, 2021, 220(5): e202103117.
- [16] WITKOS T M, LOWE M. The Golgin family of coiled-coil tethering proteins [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2015, 3: 86.
- [17] MUNRO S. The golgin coiled-coil proteins of the Golgi apparatus [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3(6): a005256.
- [18] BARR F A, NAKAMURA N, WARREN G. Mapping the interaction between GRASP65 and GM130, components of a protein complex involved in the stacking of Golgi cisternae [J]. *EMBO J*, 1998, 17(12): 3258-68.
- [19] NAKAMURA N, RABOUILLE C, WATSON R, et al. Characterization of a cis-Golgi matrix protein, GM130 [J]. *J Cell Biol*, 1995, 131(6 Pt 2): 1715-26.
- [20] SÖNNICHSEN B, LOWE M, LEVINE T, et al. A role for giantin in docking COPI vesicles to Golgi membranes [J]. *J Cell Biol*, 1998, 140(5): 1013-21.
- [21] PUTHENVEEDU M A, BACHERT C, PURI S, et al. GM130 and GRASP65-dependent lateral cisternal fusion allows uniform Golgi-enzyme distribution [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(3): 238-48.
- [22] YADAV S, PUTHENVEEDU M A, LINSTEDT A D. Golgin160 recruits the dynein motor to position the Golgi apparatus [J]. *Dev Cell*, 2012, 23(1): 153-65.
- [23] DERBY M C, LIEU Z Z, BROWN D, et al. The trans-Golgi network golgin, GCC185, is required for endosome-to-Golgi transport and maintenance of Golgi structure [J]. *Traffic*, 2007, 8(6): 758-73.
- [24] GOSAVI P, HOUGHTON F J, MCMILLAN P J, et al. The Golgi ribbon in mammalian cells negatively regulates autophagy by modulating mTOR activity [J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(3): jcs211987.
- [25] D'SOUZA Z, SUMYA F T, KHAKUREL A, et al. Getting sugar coating right! The role of the Golgi trafficking machinery in glycosylation [J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3275.
- [26] TANG D, WANG Y. Cell cycle regulation of Golgi membrane dynamics [J]. *Trends Cell Biol*, 2013, 23(6): 296-304.
- [27] HIDALGO CARCEDO C, BONAZZI M, SPANÒ S, et al. Mitotic Golgi partitioning is driven by the membrane-fissioning protein CtBP3/BARS [J]. *Science*, 2004, 305(5680): 93-6.
- [28] RABOUILLE C, LEVINE T P, PETERS J M, et al. An NSF-like ATPase, p97, and NSF mediate cisternal regrowth from mitotic golgi fragments [J]. *Cell*, 1995, 82(6): 905-14.
- [29] TANG D, MAR K, WARREN G, et al. Molecular mechanism of mitotic Golgi disassembly and reassembly revealed by a defined reconstitution assay [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(10): 6085-94.
- [30] MEREITER S, BALMAÑA M, CAMPOS D, et al. Glycosylation in the era of cancer-targeted therapy: where are we heading [J]? *Cancer Cell*, 2019, 36(1): 6-16.
- [31] VLAD D B, DUMITRASCU D I, DUMITRASCU A L. Golgi's role in the development of possible new therapies in cancer [J]. *Cells*, 2023, 12(11): 1499.
- [32] ZHANG X. Alterations of Golgi structural proteins and glycosylation defects in cancer [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 665289.
- [33] KELLEHER D J, GILMORE R. An evolving view of the eukaryotic oligosaccharyltransferase [J]. *Glycobiology*, 2006, 16(4): 47r-62r.
- [34] UNGAR D. Golgi linked protein glycosylation and associated diseases [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2009, 20(7): 762-9.
- [35] ZHANG X, WANG Y. Nonredundant roles of GRASP55 and GRASP65 in the Golgi apparatus and beyond [J]. *Trends Biochem Sci*, 2020, 45(12): 1065-79.
- [36] XIANG Y, ZHANG X, NIX D B, et al. Regulation of protein glycosylation and sorting by the Golgi matrix proteins GRASP55/65 [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1659.
- [37] REYNDERS E, FOULQUIER F, ANNAERT W, et al. How Golgi glycosylation meets and needs trafficking: the case of the COG complex [J]. *Glycobiology*, 2011, 21(7): 853-63.
- [38] BAILEY BLACKBURN J, POKROVSKAYA I, FISHER P, et al. COG complex complexities: detailed characterization of a complete set of HEK293T cells lacking individual COG subunits [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2016, 4: 23.
- [39] D'SOUZA Z, BLACKBURN J B, KUDLYK T, et al. Defects in COG-mediated Golgi trafficking alter endo-lysosomal system in human cells [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 118.
- [40] D'SOUZA Z, TAHER F S, LUPASHIN V V. Golgi inCOGnito: from vesicle tethering to human disease [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2020, 1864(11): 129694.
- [41] WANG H Y, BHARTI D, LEVENTAL I. Membrane heterogeneity beyond the plasma membrane [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 580814.
- [42] BUI S, MEJIA I, DIAZ B, et al. Adaptation of the Golgi apparatus in cancer cell invasion and metastasis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 806482.
- [43] BAJAJ R, WARNER A N, FRADETTE J F, et al. Dance of the Golgi: understanding Golgi dynamics in cancer metastasis [J]. *Cells*, 2022, 11(9): 1484.
- [44] PETROSYAN A, ALI M F, CHENG P W. Glycosyltransferase-specific Golgi-targeting mechanisms [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(45): 37621-7.
- [45] BASCHIERI F, UETZ-VON ALLMEN E, LEGLER D F, et al. Loss of GM130 in breast cancer cells and its effects on cell migration, invasion and polarity [J]. *Cell Cycle*, 2015, 14(8): 1139-47.
- [46] ZHAO J, YANG C, GUO S, et al. GM130 regulates epithelial-to-mesenchymal transition and invasion of gastric cancer cells via snail [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 10784-91.
- [47] CHENG P W, DAVIDSON S, BHAT G. Markers of malignant prostate cancer cells: Golgi localization of α -mannosidase 1A at GM130-GRASP65 site and appearance of high mannose N-glycans on cell surface [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020,

- 527(2): 406-10.
- [48] POTHUKUCHI P, AGLIARULO I, PIROZZI M, et al. GRASP55 regulates intra-Golgi localization of glycosylation enzymes to control glycosphingolipid biosynthesis [J]. *EMBO J*, 2021, 40(20): e107766.
- [49] PALM W. GOLPH3 tunes up glycosphingolipid biosynthesis for cell growth [J]. *Embo J*, 2021, 40(8): e108070.
- [50] KENNEDY G, GIBSON O, D T O H, et al. The role of CaMKK2 in Golgi-associated vesicle trafficking [J]. *Biochem Soc Trans*, 2023, 51(1): 331-42.
- [51] MANI S, THATTAI M. Stacking the odds for Golgi cisternal maturation [J]. *eLife*, 2016, 5: e16231.
- [52] NAKANO A, LUINI A. Passage through the Golgi [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(4): 471-8.
- [53] PAPANIKOU E, DAY K J, AUSTIN J, et al. COPI selectively drives maturation of the early Golgi [J]. *eLife*, 2015, 4: e13232.
- [54] PATTERSON G H, HIRSCHBERG K, POLISHCHUK R S, et al. Transport through the Golgi apparatus by rapid partitioning within a two-phase membrane system [J]. *Cell*, 2008, 133(6): 1055-67.
- [55] LIPPINCOTT-SCHWARTZ J, PHAIR R D. Lipids and cholesterol as regulators of traffic in the endomembrane system [J]. *Annu Rev Biophys*, 2010, 39: 559-78.
- [56] BRAULKE T, BONIFACINO J S. Sorting of lysosomal proteins [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793(4): 605-14.
- [57] GUO Y, SIRKIS D W, SCHEKMAN R. Protein sorting at the trans-Golgi network [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 169-206.
- [58] KIENZLE C, VON BLUME J. Secretory cargo sorting at the trans-Golgi network [J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24(10): 584-93.
- [59] GERDES H H, GLOMBIK M M. Signal-mediated sorting to the regulated pathway of protein secretion [J]. *Ann Anat*, 1999, 181(5): 447-53.
- [60] CUI L, LI H, XI Y, et al. Vesicle trafficking and vesicle fusion: mechanisms, biological functions, and their implications for potential disease therapy [J]. *Mol Biomed*, 2022, 3(1): 29.
- [61] CHAKRABARTI R, LEE M, HIGGS H N. Multiple roles for actin in secretory and endocytic pathways [J]. *Curr Biol*, 2021, 31(10): R603-R18.
- [62] MOHAN A G, CALENIC B, GHIURAU N A, et al. The Golgi apparatus: a voyage through time, structure, function and implication in neurodegenerative disorders [J]. *Cells*, 2023, 12(15): 1972.
- [63] JOSHI G, CHI Y, HUANG Z, et al. A β -induced Golgi fragmentation in Alzheimer's disease enhances A β production [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(13): E1230-9.
- [64] BALOYANNIS S J. Golgi apparatus and protein trafficking in Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2014, 42: S153-S62.
- [65] LIAZOGHLI D, PERREAULT S, MICHEVA K D, et al. Fragmentation of the Golgi apparatus induced by the overexpression of wild-type and mutant human tau forms in neurons [J]. *Am J Pathol*, 2005, 166(5): 1499-514.
- [66] SUN K H, DE PABLO Y, VINCENT F, et al. Novel genetic tools reveal Cdk5's major role in Golgi fragmentation in Alzheimer's disease [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(7): 3052-69.
- [67] JOSHI G, WANG Y. Golgi defects enhance APP amyloidogenic processing in Alzheimer's disease [J]. *Bioessays*, 2015, 37(3): 240-7.
- [68] DIPPOLD H C, NG M M, FARBER-KATZ S E, et al. GOLPH3 bridges phosphatidylinositol-4-phosphate and actomyosin to stretch and shape the Golgi to promote budding [J]. *Cell*, 2009, 139(2): 337-51.
- [69] BUCURICA S, GAMAN L, JINGA M, et al. Golgi apparatus target proteins in gastroenterological cancers: a comprehensive review of GOLPH3 and GOLGA proteins [J]. *Cells*, 2023, 12(14): 1823.
- [70] DENG S, LIU J, WU X, et al. Golgi apparatus: a potential therapeutic target for autophagy-associated neurological diseases [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 564975.
- [71] MENG X, WIJAYA C S, SHAO Q, et al. Triggered Golgi membrane enrichment promotes PtdIns(4,5)P₂ generation for plasma membrane repair [J]. *J Cell Biol*, 2023, 222(8): e202303017.
- [72] JOACHIM J, JEFFERIES H B, RAZI M, et al. Activation of ULK kinase and autophagy by GABARAP trafficking from the centrosome is regulated by WAC and GM130 [J]. *Mol Cell*, 2015, 60(6): 899-913.
- [73] GE L, MELVILLE D, ZHANG M, et al. The ER-Golgi intermediate compartment is a key membrane source for the LC3 lipidation step of autophagosome biogenesis [J]. *eLife*, 2013, 2: e00947.
- [74] WANG L, PAN Y, HUANG M, et al. PAQR3 augments amino acid deprivation-induced autophagy by inhibiting mTORC1 signaling [J]. *Cell Signal*, 2017, 33: 98-106.
- [75] GOSAVI P, HOUGHTON F J, MCMILLAN P J, et al. The Golgi ribbon in mammalian cells negatively regulates autophagy by modulating mTOR activity [J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(3): jcs211987.
- [76] ZHAO Y, ZOU Z, SUN D, et al. GLIPR2 is a negative regulator of autophagy and the BECN1-ATG14-containing phosphatidylinositol 3-kinase complex [J]. *Autophagy*, 2021, 17(10): 2891-904.
- [77] SAWA-MAKARSKA J, BAUMANN V, COUDEVYLLE N, et al. Reconstitution of autophagosome nucleation defines Atg9 vesicles as seeds for membrane formation [J]. *Science*, 2020, 369(6508): eaaz7714.
- [78] ZHANG X, WANG L, LAK B, et al. GRASP55 senses glucose deprivation through O-GlcNAcylation to promote autophagosome-lysosome fusion [J]. *Dev Cell*, 2018, 45(2): 245-61.e6.
- [79] ZHANG X, WANG L, IRELAND S C, et al. GORASP2/GRASP55 collaborates with the PtdIns3K UVRAG complex to facilitate autophagosome-lysosome fusion [J]. *Autophagy*, 2019, 15(10): 1787-800.
- [80] ALBANESI J, WANG H, SUN H Q, et al. GABARAP-mediated targeting of PI4K2A/PI4KII α to autophagosomes regulates PtdIns4P-dependent autophagosome-lysosome fusion [J]. *Autophagy*, 2015, 11(11): 2127-9.
- [81] RENNA M, SCHAFFNER C, WINSLOW A R, et al. Autophagic substrate clearance requires activity of the syntaxin-5 SNARE complex [J]. *J Cell Sci*, 2011, 124(Pt 3): 469-82.
- [82] LU L Q, TANG M Z, QI Z H, et al. Regulation of the Golgi apparatus via GOLPH3-mediated new selective autophagy [J]. *Life Sci*, 2020, 253: 117700.
- [83] NTHIGA T M, SHRESTHA B K, BRUUN J A, et al. Regulation of Golgi turnover by CALCOCO1-mediated selective autophagy

- [J]. *J Cell Biol*, 2021, 220(6): e202006128.
- [84] ZHANG M, LIU L, LIN X, et al. A translocation pathway for vesicle-mediated unconventional protein secretion [J]. *Cell*, 2020, 181(3): 637-52, e15.
- [85] DUPONT N, JIANG S, PILLI M, et al. Autophagy-based unconventional secretory pathway for extracellular delivery of IL-1 β [J]. *EMBO J*, 2011, 30(23): 4701-11.
- [86] GEE H Y, NOH S H, TANG B L, et al. Rescue of Δ F508-CFTR trafficking via a GRASP-dependent unconventional secretion pathway [J]. *Cell*, 2011, 146(5): 746-60.
- [87] LI J, AHAT E, WANG Y. Golgi structure and function in health, stress, and diseases [J]. *Results Probl Cell Differ*, 2019, 67: 441-85.
- [88] HOW P C, SHIELDS D. Tethering function of the caspase cleavage fragment of Golgi protein p115 promotes apoptosis via a p53-dependent pathway [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(10): 8565-76.
- [89] CHENG J P, BETIN V M, WEIR H, et al. Caspase cleavage of the Golgi stacking factor GRASP65 is required for Fas/CD95-mediated apoptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2010, 1(10): e82.
- [90] MANCINI M, MACHAMER C E, ROY S, et al. Caspase-2 is localized at the Golgi complex and cleaves golgin-160 during apoptosis [J]. *J Cell Biol*, 2000, 149(3): 603-12.
- [91] BISEL B, WANG Y, WEI J H, et al. ERK regulates Golgi and centrosome orientation towards the leading edge through GRASP65 [J]. *J Cell Biol*, 2008, 182(5): 837-43.
- [92] HAO H, NIU J, XUE B, et al. Golgi-associated microtubules are fast cargo tracks and required for persistent cell migration [J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(3): e48385.
- [93] AGLIARULO I, PARASHURAMAN S. Golgi apparatus regulates plasma membrane composition and function [J]. *Cells*, 2022, 11(3): 368.